

# CONTRIBUCION AL TRATAMIENTO FISIOPATOLOGICO DE LA DISTROFIA \*

ESTUDIO EXPERIMENTAL Y CLINICO

OCTAVIO MONGRUT MUÑOZ

## INTRODUCCION

Uno de los capítulos más sugestivos de la *Clínica Pediátrica* es el estudio de la fisiología y patología de la nutrición, pues su influencia se refleja de modo notable en todos los procesos de desarrollo y crecimiento del niño, y en el mantenimiento de un adecuado sistema inmunitario contra la enfermedad.

Desde hace muchos años el problema de la desnutrición infantil, particularmente del lactante, en el Perú, ha merecido la atención preferencial de los pediatras, tanto por su extraordinaria magnitud, como por ser la causa preponderante de la morboletalidad en el primer año de vida.

Si bien los trabajos de KRUMDIECK<sup>1, 2, 3, 4</sup>, FILOMENO<sup>5</sup>, LEÓN GARCÍA<sup>6</sup>, BAZÁN<sup>7</sup>, ARRIOLA<sup>8</sup>, y otros, han contribuido al conocimiento de los factores sociales, culturales, económicos, morales, etc., que intervienen en la génesis de la distrofia; en el campo en que más han destacado las investigaciones de la *Escuela Pediátrica Peruana*, es en el estudio de la *Bioquímica y Fisiopatología hepática de la desnutrición infantil*, aportando nuevos conceptos sobre su mecanismo fisiopatológico y orientando mejor la clínica y terapéutica de estos procesos.

En 1945, GILLMAN y GILLMAN<sup>9</sup>, realizaron un estudio en veinte niños pelagrosos, demostrando la presencia de lesiones del parénquima hepático caracterizadas por infiltración grasosa, que aparecían precozmente y no guardaban ninguna relación con los procesos infecciosos concomitantes con el cuadro carencial. Dichos autores consideraron que tales alteraciones eran dependientes

\* Trabajo realizado en los Servicios de Clínica y Laboratorio de la Cátedra de Pediatría del Hospital del Niño.

únicamente de la enfermedad y comprobaron que la administración de colina mejoraba el cuadro clínico y disminuía, al mismo tiempo, la esteatosis hepática.

FRANKLIN, POPPER, STEINMANN y KOZOLL<sup>10</sup>, estudiaron el comportamiento de las pruebas funcionales hepáticas: turbidez, del timol, floculación de cefalina-colesterol, excreción de bromosulfaleína, tiempo de protrombina y tasas de bilirrubina directa e indirecta y de albúminas y globulinas plasmáticas, con algunas alteraciones histológicas de la glándula, y establecieron que estadísticamente hay correlación significativa entre el daño celular difuso y las pruebas antes mencionadas, no existiendo en cambio ninguna vinculación con la necrosis focal.

KRUMDIECK y MUÑOZ PUGLISEVICH<sup>11</sup>, fueron los primeros entre nosotros en encausar el plan de investigaciones pediátricas hacia el estudio del fisiologismo hepático en la desnutrición. En la comunicación que presentaron al Quinto Congreso Internacional de Pediatría, reunido en Nueva York, en Julio de 1947, demostraron anatómicamente, por medio de biopsias, un franco compromiso hepático en los distróficos policarenciales, caracterizado por infiltración del tejido conjuntivo por células linfoplasmáticas e infiltración grasosa y lesiones de vacuolización y picnosis nuclear en la célula hepática. En la parte bioquímica hallaron cifras bajas de proteínas y albúminas plasmáticas, elevación de la tasa de globulinas y bilirrubina directa e indirecta, positividad de la reacción de floculación de cefalina colesterol, retardo en el test de excreción de bromosulfaleína, alargamiento del tiempo de protrombina, etc., que interpretaron como originadas por alteraciones del hígado en sus aspectos anatómico y funcional, a consecuencia del deficiente aporte alimenticio. Estos trabajos fueron confirmados posteriormente por nuevos autores.

KUONG CABELLO<sup>12</sup>, en distróficos policarenciales encontró reacciones positivas débiles de cefalina-colesterol a las 24 horas en el 94% de los casos estudiados, y 98% de positividad a las 48 horas, sin que los resultados guardaran relación con el grado de desnutrición de los niños.

HUARINGA<sup>13</sup>, estudió el comportamiento de la misma reacción en niños eutróficos, y obtuvo el 90% de respuestas negativas.

CASTELLANO<sup>14</sup>, hizo la determinación de la bilirrubinemia en distróficos, encontrando cifras elevadas de bilirrubina directa e indirecta que consideró debidas a cierto grado de insuficiencia

de la célula hepática para excretar los pigmentos biliares; insuficiencia tanto más marcada cuanto más grave era la desnutrición.

Finalmente, ORLANDINI<sup>15</sup>, fué el que con más detenimiento investigó el comportamiento de las pruebas hepáticas de floculación: oro coloidal, cefalina-colesterol y timol, en la desnutrición infantil y toxicosis. Comprobó en 147 niños (79 distróficos, 50 toxicósicos y 10 con dispepsia), que dichas pruebas presentaban distintos grados de positividad e intensidad de floculación, según el tiempo de la distrofia. Así, observó que al inicio el timol y el oro coloidal eran positivos en el 81 y 90 % de los casos y luego aumentaban el número de casos positivos al 95%, así como la intensidad de las reacciones, con el lapso de permanencia hospitalaria. La prueba de Hänger, en cambio, en la mayoría de los casos fué negativa o poco intensa en el primer control, para hacerse positiva y de fuerte floculación en los controles sucesivos, llegando casi hasta el 80%.

Estudios realizados por otros investigadores sudamericanos han confirmado la importancia del trastorno hepático en la distrofia policarencial, ratificando los hallazgos efectuados por los autores señalados.

Fueron, pues, tales trabajos los que nos impulsaron a proseguir los estudios ya iniciados sobre la fisiopatología hepática y la desnutrición infantil. En este sentido orientamos nuestras investigaciones experimentales y clínicas, en el afán de establecer una unidad indubitable entre las lesiones anatómicas y funcionales del hígado, hasta ahora encontradas, y el estado de distrofia, a fin de alcanzar con ello una fórmula terapéutica eficaz y contribuir a la solución de estos problemas del niño que con tanta dedicación ha llevado la *Escuela Pediátrica Peruana*.

## CAPITULO PRIMERO

### EL HIGADO Y EL METABOLISMO GENERAL

El hígado cumple rol de fundamental importancia en el organismo. Las funciones de que está encargado según EPPINGER<sup>16</sup>, son:

- a) Funciones de secreción de bilis.

b) Funciones de detoxificación: conjugación, deaminación, etc.

c) Funciones de formación sanguínea.

d) Funciones metabólicas: degradación y transformación de los hidratos de carbono, proteínas, lípidos y algunas vitaminas.

Con el fin de apreciar mejor la intervención del hígado en el metabolismo general, y las relaciones que vemos tiene con la desnutrición infantil, analizaremos algunos aspectos de su fisiología y las alteraciones anatómicas y funcionales que se han encontrado clínica y experimentalmente, en los casos de desnutrición y distrofia.

#### TRASTORNOS HEPATICOS EN LOS CASOS DE DESNUTRICION E HIPOALIMENTACION:

Desde hace mucho se conoce que el hígado es el primer órgano de la economía que es afectado durante la inanición o el ayuno, o cuando el aporte de sustancias alimenticias, especialmente nitrogenadas, es insuficiente para mantener un adecuado equilibrio metabólico. En tales casos se han descrito las siguientes alteraciones:

##### A) Alteraciones volumétricas

Desde los trabajos de WHIPPLE<sup>17</sup>, se considera que las proteínas orgánicas están agrupadas en tres formas: a) reserva lábil de proteínas, b) reserva dispensable de proteínas, que se encontraría almacenada en el hígado y otros órganos, y c) proteínas fijas o indispensables. Todas estas diversas formas proteicas serían movilizadas progresivamente por el organismo al tratar de restablecer a nivel normal la proteinemia, cuando sufre alteraciones por perturbaciones fisiológicas o patológicas.

WILSON<sup>18</sup>, por su parte ha dividido las proteínas en tres categorías: "circulantes", "intermediarias" y "corporales", que corresponderían a los tres tipos de la clasificación de WHIPPLE, y lo ha demostrado sometiendo a los animales de experimentación a ayuno prolongado o inanición.

Por otro lado, ADDIS, POO y LEW<sup>19</sup>, experimentando en ratas sometidas a siete días de ayuno han comprobado que el hígado sufre una pérdida de sus proteínas que llega al 40% de su peso, en cambio el cerebro pierde solamente el 4% y los músculos, esqueleto y piel el 8%. Los mismos autores en posteriores experimentos<sup>20</sup>, demostraron que un ayuno de dos días reduce las proteí-

nas hepáticas en un 20%, mientras las pérdidas de proteínas corporales alcanzan al 4%.

KOSTERLITZ<sup>21</sup>, informó que las ratas alimentadas con dietas exentas de proteínas pierden casi el 15% del peso de su parénquima hepático durante el primer día.

BERG<sup>22</sup>, por medio de técnicas microscópicas ha sido capaz de distinguir en las células hepáticas de animales bien alimentados, gotas de materias proteicas que colorean con el azul de metileno, y que desaparecen cuando los animales son puestos en ayuno, y al contrario, son prontamente restituidas al proporcionárseles cantidades suficientes de proteínas o de una mixtura de aminoácidos. El mismo experimento ha sido verificado posteriormente por LI<sup>23</sup>, llegando a obtener iguales resultados.

LUCK<sup>24</sup>, por métodos químicos llegó a diferenciar las proteínas almacenadas, de las otras proteínas que existen en el hígado. Este autor identificó que en la célula hepática hay una albúmina y tres globulinas, las que pueden incrementarse cuando se administra a los animales de experimentación gran cantidad de sustancias proteicas. Considera asimismo que las ratas que reciben dietas que contienen elevada proporción de aminoácidos, poseen 120% más proteínas en el hígado y 10% más en los músculos, que aquellas alimentadas con raciones pobres de estos elementos.

Estos trabajos demostrarían que los órganos y tejidos varían en aptitud para almacenar o movilizar sus reservas proteicas, durante el ayuno o cuando el aporte de la alimentación es insuficiente para satisfacer las demandas del metabolismo general. De acuerdo con los estudios experimentales antes mencionados, el hígado sería el órgano que reacciona con mayor facilidad al respecto.

### B) *Alteraciones anatómicas*

Las alteraciones de la glándula hepática, descritas hasta ahora, ocasionadas por una dieta insuficiente o durante los estados de desnutrición, son: la infiltración grasosa, la degeneración vacuolar del citoplasma y picnosis nuclear, y finalmente necrosis.

1º *Infiltración grasosa*: Según PETERS y VAN SLYKE<sup>25</sup>, en la célula hepática puede acumularse excesiva cantidad de grasa, bajo dos circunstancias: a) cuando los lípidos son movilizados de los depósitos para satisfacer las demandas exageradas de

combustión, y, b) cuando a causa de algún disturbio dietético o acción tóxica, el metabolismo en el hígado llega a ser insuficiente, de modo que el "turnover" de lípidos en dicho órgano es intensamente afectado. La primera condición es sólo una exageración de los procesos fisiológicos normales; la segunda, en cambio, puede ser considerada como un estado patológico. La infiltración grasosa fisiológica y patológica se distinguen entre sí no solamente por la cantidad de lípidos que se depositan en las células del hígado, sino también por el carácter y la distribución de las sustancias que intervienen en su composición.

Desde los experimentos de MINKOWSKI<sup>26</sup>, se conoce que la extirpación del páncreas en los perros va seguida de un rápido depósito de grasas en el hígado. Al principio se creyó que este fenómeno era debido a la movilización de la grasa de los tejidos, para la producción de energía a través de la formación de cuerpos cetónicos. Más tarde, ALLAN, BOWIE, MACLEOD y ROBINSON<sup>27</sup>, informaron que la administración de insulina no podía prolongar la vida de los perros pancreatomeclizados debido a que después de cierto tiempo, los animales presentaban síntomas que hacían pensar en la existencia de graves alteraciones hepáticas; la autopsia en tales casos reveló intensa degeneración grasosa de la glándula. Dichos autores comprobaron, que las lesiones hepáticas podían ser prevenidas si se adicionaba páncreas crudo en la dieta. Posteriormente HERSEY y SOSKIN<sup>28</sup>, experimentando también en perros pancreatomeclizados, comunicaron el descubrimiento de que la lecitina de la yema de huevo tenía los mismos efectos del páncreas crudo. Se pensó entonces en la posibilidad de que la esteatosis hepática podía obedecer a la carencia de algún principio esencial de la alimentación. Se confirmó esta hipótesis al lograrse producir experimentalmente, en animales, diversos grados de degeneración grasosa del hígado, agregándoles o sustrayéndoles de la dieta una gran variedad de compuestos.

De otro lado, la distinción entre la infiltración grasosa de naturaleza fisiológica y patológica, es claramente ilustrada por las reacciones de los perros pancreatomeclizados. Si el animal es privado de insulina, la grasa se deposita en el hígado. Al mismo tiempo aparece hiperlipemia y ketosis. La lipemia, infiltración grasosa y ketosis indican la rápida movilización de la grasa de los depósitos y su acelerado metabolismo, cuando la oxidación de los carbohidratos está reducida al mínimo, y dichas

sustancias constituyen casi la única fuente de energía. En la infiltración grasosa fisiológica, los lípidos del plasma sanguíneo y del hígado, no están alterados; los ácidos grasos representan a las grasas de los depósitos o a las de la alimentación. La naturaleza y distribución de los fosfátidos y esteroides, tampoco es anormal.

Este tipo de esteatosis hepática, es abolida cuando se acelera el metabolismo de los carbohidratos: por la administración de insulina en el animal diabético o por el suministro de glúcidos en el ayuno parcial o total. La degeneración grasosa fisiológica, no es un defecto en los procesos del metabolismo de los lípidos durante la carencia de carbohidratos. En estos casos, la grasa puede ser movilizada libremente, existiendo tan sólo una alteración en la vía que siguen para su combustión, en respuesta a un estímulo fisiológico intenso, pero normal.

Esto se confirma por los estudios de STEETEN y SALCEDO<sup>29</sup>, quienes han demostrado, mediante la utilización de agua pesada en animales que recibían extractos de lóbulo anterior de la hipófisis, que los ácidos grasos que se acumulan en el hígado durante la ketosis, provienen en su totalidad de los depósitos.

Las características de la infiltración grasosa patológica del hígado, difieren de la anterior. En efecto, los animales pancreatocetomizados que reciben insulina o los que tienen deficiencias dietéticas que conducen al hígado graso, presentan un cuadro enteramente distinto. En estos casos los animales no consumen ni movilizan mayor proporción de grasas y no presentan ketosis. Muestran disminución y no exceso de lípidos en el plasma sanguíneo. Además la distribución de lípidos en el suero es anormal. Según CHAIKOFF y KAPLAN<sup>30</sup>, los ésteres de colesterol y fosfátidos están notablemente reducidos. En el hígado los lípidos están alterados: hay mayor proporción de fosfolípidos. Estos disturbios no son afectados por la administración de insulina o carbohidratos. BEST<sup>31</sup>, ha demostrado que la tolerancia de carbohidratos en los perros pancreatocetomizados se incrementa a medida que se deposita grasa en el hígado, disminuyendo a su vez los requerimientos de insulina. Al contrario, cuando por la adición de determinados factores se disminuye la esteatosis hepática en dichos animales, la diabetes aparece o se hace más severa.

En las deficiencias dietéticas, la infiltración grasosa del hígado no denota necesariamente un acelerado metabolismo de los

lípidos. STEETEN y GRAIL<sup>32</sup>, han establecido que los animales hipocalimentados, no acumulan grasa en sus depósitos, y sí en el hígado. Bajo la administración de ciertos factores la grasa desaparece de esta glándula y los lípidos del suero llegarían a ser normales en cantidad y distribución. Al mismo tiempo, el mejoramiento de la nutrición aumentaría los depósitos normales de grasa, y en consecuencia, el metabolismo de los lípidos parecería estar bloqueado a nivel del hígado.

Los efectos patológicos del desorden nutritivo no están limitados solamente a la acumulación de grasa en el hígado. Si el proceso es suficientemente severo, la adiposis de las células persiste y evolucionan hacia la cirrosis.

Resultaría así que, en las deficiencias nutritivas generales, la infiltración grasosa del hígado indicaría la ausencia en la alimentación de algunos compuestos esenciales para la síntesis de los fosfolípidos o la presencia de algunas sustancias que interfieren esta síntesis.

#### *Causas dietéticas de la infiltración grasosa del hígado.*

En el Cuadro N° 1, resumimos las principales causas nutritivas a las cuales obedece con más frecuencia la infiltración grasosa del hígado.

##### *a) Deficiencia de ácidos grasos esenciales*

BURR y BURR<sup>33, 34</sup>, fueron los primeros en demostrar la importancia del ácido linoleico en la mantención de las ratas sometidas a dietas libres de grasas. Más tarde TURNER y BIDWELL<sup>35</sup>, informaron sobre el rol del ácido arachidónico para el metabolismo lipídico en los conejos. Posteriores investigaciones de BURR<sup>36</sup> y NUME, NUNN, SMEEDLEY, MACLEAN y SMITH<sup>37</sup>, confirmaron su valor como constituyentes esenciales de la dieta. La carencia de los ácidos grasos linoleico y arachidónico, según ENGEL<sup>38</sup>, no solamente determina trastornos nutritivos y tegumentarios, sino también infiltración grasosa del hígado, debido a que en estos casos el organismo es incapaz de reservar grasa en sus depósitos, y a que se interfiere la síntesis de los fosfolípidos, de los cuales son constituyentes esenciales.

BARNES, MILLER y BURR<sup>39</sup>, han demostrado que en las ratas deficientes en ácidos linoleico y arachidónico, la absorción de

CUADRO N° 1

Causa de la infiltración	Remediada por			Naturaleza de la infiltración
	Colina	Metionina	Varios	
Deficiencia de ácidos linoleico y arachidónico	0	0	0	Depósito de ácidos grasos por falta fosfatidos.
Deficiencia de colina	+	+	Dadores de metilo	Inhabilidad para formar lecitina.
Deficiencia de metionina	0	+	Hemocistina+ colina	Deficiencia de grupos metilos.
Exceso de ácido guanidinacético	+	+	Dadores de metilo	Se toma el metilo de la colina para formar creatina. Promueve el depósito de grasa incrementando la demanda de colina.
Exceso de cistina	+	+		Forma cisteina y exceso de fosfatidyl serina?
Exceso de serina	+?	+?		Forma cisteina y exceso de fosfatidyl serina?
Exceso de colesterol	(+)	(+)		Se opone a los fosfatidos y forma ácidos grasos no saturados.
Exceso de extracto hepático	(+)	(+)	Lipocaico • inositol	Exceso de biotina.
Pancreatectomía	+	+	Lipocaico	Insuficiente absorción de lipotrópicos y absorción de agentes nocivos.
Exceso de tiamina	+	+		Incrementa el apetito y neoformación de grasa por intermedio de los carbohidratos.
Exceso de riboflavina	+	+		Incrementa el apetito y metabolismo.
Exceso de piridoxina	+	+	Inositol	Incrementa la demanda de colina e inositol.
Exceso de biotina	0	0	Inositol	Incrementa la demanda de inositol.
Exceso de ác. pantoténico	+?	+?		Incierta.
Exceso de ác. nicotínico	+	+	Dadores de metilo	Toma el metilo de la colina para formar trigonelina.

grasas está disminuída, sin guardar relación con el tamaño del animal, a causa de que la fosforilación a nivel de la mucosa intestinal está alterada. Los animales, además, cuando se les

administra ácidos grasos conjugados de aceite de maíz, presentaron en el hígado fosfolípidos sintetizados a base de este tipo de grasa.

De otro lado, CHANNON, HANSON y LOIZIDES<sup>40</sup>, comprobaron que los depósitos de grasa en el hígado están directamente relacionados con la proporción de ácidos grasos saturados de C14 y C18, en la dieta. En experiencias similares CHANNON y WILKINSON<sup>41</sup>, establecieron que las grasas que se acumulan en la célula hepática en las ratas sometidas durante 40 días a dietas que contenían grasa de diferente procedencia, varían proporcionalmente con la calidad de los ácidos que los constituyen. Estos autores encontraron que la riqueza lípido-hepática era la siguiente: con mantequilla 30.7; con grasa de carne 27.1; con aceite de palma 26.4; con aceite de coco 20.5; con aceite de olivo 15.6 y con aceite de hígado de bacalao 7.22% del peso de la glándula. Se demostraría así, que los alimentos más ricos en ácidos grasos saturados facilitarían el depósito de lípidos en la célula hepática. ARTOM y SWANSON<sup>42</sup>, mediante el empleo de bromo comprobaron que el hígado llega a infiltrarse precisamente, con aquellas grasas que son menos susceptibles de metabolizarse.

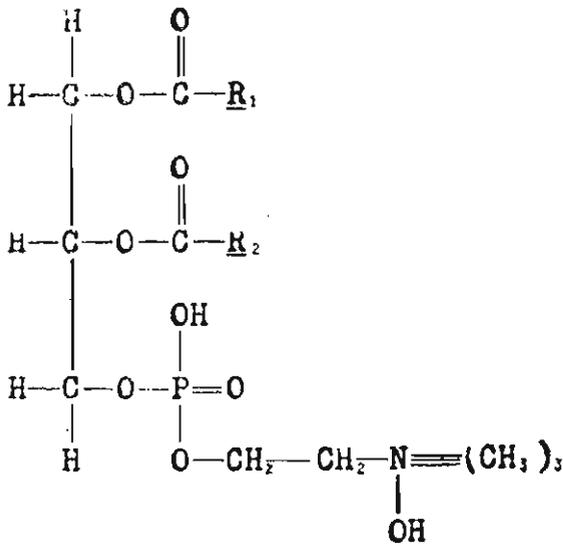
Los ácidos linoleico y arachidónico son esenciales porque no pueden ser sintetizados en el organismo, y sin ellos los tejidos son incapaces de proveerse de los ácidos grasos no saturados que son constituyentes fundamentales de sus fosfolípidos<sup>37, 42</sup>. La deficiencia alimenticia de dichos ácidos ocasionaría una interferencia en la formación de fosfolípidos en el hígado, favoreciendo por tanto, el depósito de ácidos grasos saturados.

#### b) Deficiencia de colina

Los primeros casos de adiposis hepática, producidas por deficiencias nutritivas, fueron conseguidos por BEST y colab.<sup>43</sup>, en ratas sometidas a dietas que contenían grandes cantidades de grasa y pequeñas dosis de proteínas. Posteriormente el mismo BEST<sup>44</sup>, descubrió que la elevada proporción de grasa no era un requisito tan importante para la producción de estas lesiones, como la limitada cantidad de proteínas y la omisión de otros factores esenciales de la dieta. De otro lado, habiéndose ya observado que la lecitina de la yema de huevo podía prevenir o abolir la infiltración grasosa del hígado y reemplazar al páncreas crudo en los animales pancreatometomizados<sup>28</sup> y en las ratas con esteatosis hepática, BEST y colab.<sup>45</sup>, identificaron el principio activo de la lecitina como colina.

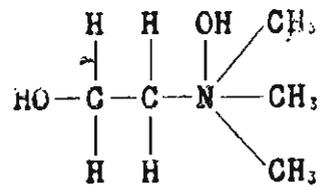
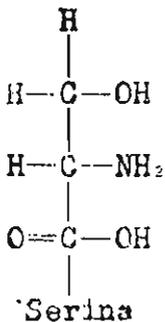
Estos investigadores establecieron que la *colina*, parte integral de la molécula de la lecitina, era el factor responsable de la infiltración grasosa de las ratas hipoalimentadas, y la catalogaron como un componente esencial de la alimentación, correspondiente al grupo de las vitaminas.

Los ácidos grasos proveniente de la alimentación deben ser fosforilados para su debido aprovechamiento en el organismo. La fosforilación se realiza en el hígado gracias a la acción de la colina, la que incorpora los ácidos grasos a la molécula de la lecitina (fosfolípido).

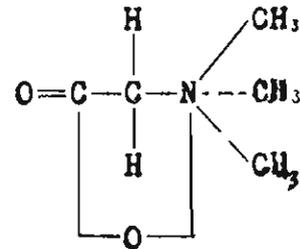


Lecitina

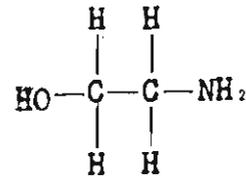
(Fosfatidil colina)



Colina

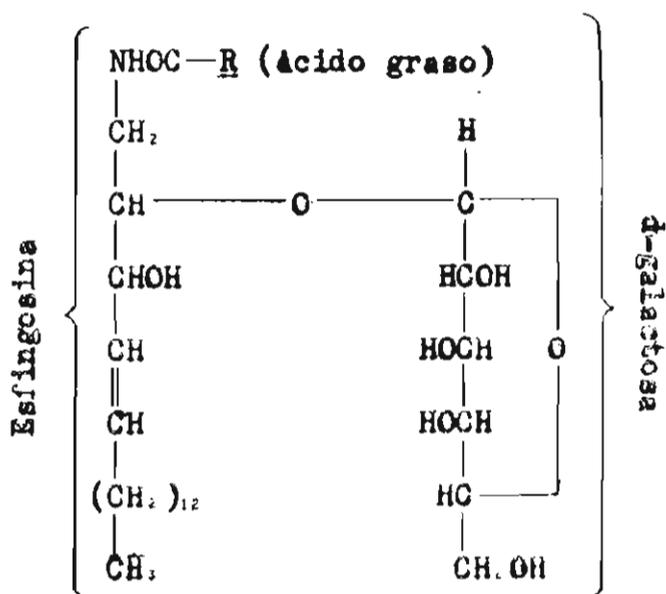


Betaina



Etanolamina





**Cerebrósido**

y LANDAU<sup>46</sup>, comprobaron que la arseno-colina, cuando se administra a las ratas junto con moderadas cantidades de grasas, puede ser recuperada de la lecitina, denotando que también tiene actividad lipotrópica. La habilidad de la colina para formar lecitina y para ejercer actividad lipotrópica, parece depender más de la disposición de su estructura arquitectónica que de su composición.

AYLWARD, CHANNON y WILKINSON<sup>47</sup>, realizaron un interesante estudio en ratas que habían permanecido durante un día sin recibir alimento, y a las que luego sometieron a dietas con y sin colina y alto contenido en grasas. Efectuaron exámenes del hígado a cortos intervalos y comprobaron que los animales que no recibían esta sustancia mostraban un considerable aumento de grasas, mientras los fosfátidos habían disminuído apreciablemente. Tales disturbios no se registraron en los animales que se alimentaban con colina.

c) *Deficiencia de metionina:*

BEST y HUNTSMAN<sup>48</sup>, descubrieron que los animales que eran alimentados con dietas deficientes en colina y que contenían sucrosa como única fuente de energía, no acumulaban tanta grasa en el hígado si se les daba una ración liberal de proteínas. Los estudios experimentales de BEESTON, CHANNON, LOACH y WILKINSON<sup>49</sup>, BEST y CHANNON<sup>50</sup>, CHANNON y WILKINSON<sup>51</sup>, demostraron que la caseína puede sustituir a la colina como agente lipotrópico, y que mientras la cistina exagera el depósito de lípidos en el hígado, la *D* y *L*-metionina previenen dichas lesiones. Poco después BEST y RIDOUT<sup>52</sup>, CHANNON, MAINFOLD y PLATT<sup>53</sup>, y TURKER y colab.<sup>54, 55, 56</sup>, ampliaron estos hallazgos al comprobar que numerosas proteínas tenían actividad lipotrópica, la que dependía únicamente de su riqueza en metionina.

La acción lipotrópica de la metionina, según VIGNEAUD y colabor.<sup>59</sup> y STEETEN<sup>60</sup>, se basa en su capacidad de proveer de grupos metilo para la síntesis de la colina a partir de la etanolamina. Del mismo modo, el análisis de diversos compuestos similares a la colina y metionina ha probado que solamente aquellas sustancias que contribuyen a la formación de colina cediendo su grupo metilo, tienen la propiedad de oponerse a la adiposis hepática, en los casos de deficiencia de colina.

Finalmente, se ha llegado a determinar que la influencia que tiene la caseína sobre la disposición de los lípidos en el hígado, obedecería a las acciones antagónicas de la cistina y metionina que contiene<sup>54, 56</sup>.

d) *Exceso de ácido guanidín acético.*

STEETEN y GRAIL<sup>61</sup>, establecieron que la administración de ácido guanidín acético, en las ratas, aún cuando reciban dosis adecuadas de colina, ocasiona una intensa degeneración grasosa del hígado. Este proceso no se debe a la disminución de la síntesis de la colina puesto que el hígado de las ratas que se alimentan con ácido guanidín acético contiene mínimas cantidades de colina, sino que esta última sería utilizada como fuente de grupos metilo para transformar el ácido acético en creatina<sup>60</sup>. Por tanto, la adición de este ácido en la dieta, determina un incremento en el consumo de colina.

e) *Exceso de cistina.*

El rol de la cistina en la producción de esteatosis hepática ha merecido el interés de numerosos investigadores, habiéndose establecido que su efecto se manifiesta solamente cuando la dieta es deficiente en algunos de los factores dadores de metilo como colina y metionina, ya que cuando se agregan a la alimentación, previenen la infiltración grasosa en presencia de altas dosis de cistina.

GRIFFITH<sup>62, 63</sup>, ha sugerido que la cistina no tendría una acción tóxica específica sobre la célula hepática, y que el mecanismo por el cual favorece el depósito de grasas, se debería a que interfiere los procesos de transporte de lípidos y crea una considerable demanda de colina y metionina, además de incrementar el apetito y el metabolismo. Demostró asimismo, que la severidad de los disturbios producidos por la deficiencia de colina, así como sus requerimientos normales, son inversamente proporcionales con la edad y directamente con el grado de crecimiento de los animales.

Se ha comprobado también, que la cistina crea una gran demanda de metionina al estimular el crecimiento, sea porque aumenta su consumo, o porque la derivaría de su función de metilación hacia la formación de nuevos tejidos<sup>55</sup>. Según HORNING y ECKSTEIN<sup>64</sup>, la cistina posee una acción antilipotrópica en las ratas jóvenes cuando se les alimenta con dietas pobres en caseína, a causa de que junto con la metionina, interviene en la formación de las proteínas tisulares.

Por su parte STEETEN y SALCEDO<sup>29</sup> han informado que las ratas deficientes en colina, que reciben agua con deuterium, lo acumulan en mayor proporción en las grasas del hígado y menos en las del esqueleto; la falta de colina —a juicio de estos autores— parece bloquear el movimiento de las grasas hepáticas a los depósitos y tejidos. Cuando se añade cistina a la dieta, la cantidad de deuterium y de grasas se incrementa en el hígado y en el esqueleto. La cistina, por tanto, intensificaría el metabolismo de las grasas originando por este mecanismo la adiposis hepática.

f) *Exceso de serina.*

BEESTON y CHANNON<sup>65</sup>, encontraron que la lisina, ácido glutámico, serina, glicina y fenilalanina, no tienen ninguna influencia

sobre el depósito de grasas en el hígado. STEETEN y GRAIL<sup>61</sup>, también han informado que la serina y la etanolamina, son inactivas para este efecto. Sin embargo, FISHMAN y ARTOM<sup>66</sup>, han reportado que las ratas que reciben de 50 a 100 miligramos de d-l serina, diariamente, mueren con antecedentes de anorexia y albuminuria, revelando la autopsia insuficiencia circulatoria periférica, congestión hepática y pulmonar y severas lesiones de los túbulos renales. BINCKLEY y VIGNEAUD<sup>67</sup>, han demostrado que la cistina se forma en el organismo de la homocistina y serina, y que dicha transformación se lleva a cabo en el tejido hepático, sugiriendo, también, que la metionina puede seguir la misma vía para la formación de cistina. STEETEN<sup>68</sup>, con ayuda de agua pesada, ha confirmado que la serina, puede ser empleada en la síntesis de la cistina y, es posible, que en esta forma —debido a un exceso de cistina— dosis elevadas de serina pueden bloquear la elaboración de lecitina, por interferir con la colina en la producción de los fosfátidos.

En resumen, la infiltración grasosa del hígado, ocurriría, entonces, cuando hay una absoluta deficiencia en la producción de colina (dietas que contienen mínimas cantidades de colina o metionina o de ambos compuestos); cuando la destrucción de colina es acelerada (suministro de ácido guanidín acético); y cuando la demanda de colina es incrementada (administración de cistina, homocistina y serina). En todos estos casos hay mucho menos de la proporción necesaria de colina y, en consecuencia, de lecitina en los lípidos del hígado, los cuales contienen mayor proporción de grasas neutras y de esteres de colesterol.

#### g) Exceso de colesterol.

El colesterol se encuentra altamente concentrado en la bilis y facilita la emulsificación y absorción de otras grasas y lípidos. Combinándose con los ácidos grasos forma esteres, participando de este modo directamente en la absorción de las grasas y fosfátidos.

Los esteres de colesterol están confinados casi enteramente a la pared intestinal, el plasma sanguíneo y el hígado, y posiblemente deben actuar como vehículos para conducir los ácidos grasos hacia dicha glándula.

LOIZIDES<sup>69</sup>, alimentando a ratas con dietas que contenían colesterol en elevada proporción y diferentes cantidades de grasa, observó

que la concentración de esteres de colesterol variaba notablemente en el hígado, según las proporciones de aquellos elementos. El colesterol total en los animales llegó a incrementarse solamente hasta cierto límite, y el excedente se almacenó en el hígado. El mismo autor refiere, que los ácidos grasos unidos al colesterol pueden ser, sin embargo, transferidos en este órgano o otros vehículos, al mismo tiempo que el organismo dispone del colesterol que queda en libertad. Y, agrega, que si la liberación del ácido graso y la disposición del colesterol fueran reacciones encadenadas habría igual afinidad por los ácidos grasos entre el colesterol y los fosfátidos. De igual modo, si el hígado estuviera sobrecargado de colesterol, una gran proporción de ácidos grasos no saturados serían inmovilizados en la forma de esteres de colesterol ante la carencia de fosfolípidos. Asimismo, si la formación de lecitina estuvieran retardada por la ausencia de colina, los esteres de colesterol serían acumulados en el hígado por la falta de apropiados recipientes para sus ácidos grasos.

De otro lado, BEST y RIDOUT<sup>52</sup>, han logrado producir infiltración grasosa del hígado en ratas, alimentándolas con moderadas cantidades de colesterol, y consideran que la mayoría de los hígados grasos descritos, contienen elevadas proporciones de esta sustancia, principalmente en la forma de esteres; este desequilibrio se exagera de modo notable por aumento en el suministro de colesterol en la alimentación.

La colina no prevendría ni aboliría la infiltración grasosa generada por dosis excesivas de colesterol, salvo que se administre en grandes cantidades<sup>52</sup>. GRIFFITH y WADE<sup>70</sup>, establecen que los esteres de colesterol depositados en el hígado son más resistentes a la acción de los agentes lipotrópicos que todas las otras grasas. Finalmente, GAVIN, PATTERSON y MCHENRY<sup>71</sup>, han demostrado que la degeneración grasosa inducida por el colesterol puede ser efectivamente tratada con una combinación de colina e inositol o lipocalco.

#### h) *Administración de extracto hepático.*

BLATERWICK y asoc.<sup>72</sup>, informaron que la administración de hígado en polvo produce en los animales de experimentación, principalmente en las ratas, infiltración grasosa porque contiene gran cantidad de grasas y colesterol y es deficiente en fos-

folípidos. Al principio se inculpó a la alta concentración de colesterol del tejido hepático, pero posteriormente MCHENRY y GAVIN<sup>73</sup>, demostraron que los extractos acuosos de hígado también originaban las mismas lesiones, las que podían ser prevenidas mediante la administración de colina. Se conocía, sin embargo, que los extractos de hígado contenían suficiente cantidad de colina como para asegurar contra su deficiencia. En experiencias efectuadas un tiempo después, dichos investigadores<sup>75</sup>, establecieron que la infiltración grasosa en tales casos se debía a la riqueza en biotina de los extractos hepáticos.

En efecto, la biotina conduciría a la adiposis hepática porque crea una considerable demanda de inositol. La provisión de biotina, a los animales, según GAVIN y MCHENRY, produciría una degeneración grasosa, similar en todos sus aspectos, a la inducida por los extractos de hígado. Estos trastornos son abolidos por el inositol y lipocaico, pero no por la colina.

#### i) *Vitaminas del Complejo B.*

En el complejo vitamínico B, además del inositol y la biotina, existen otros compuestos que influyen poderosamente en el depósito de grasa en la célula hepática. Algunos conducen a la esteatosis solamente porque estimulan el metabolismo y el apetito, otros tienen una acción positivamente deletérea y, finalmente, otros son beneficiosos.

MCHENRY<sup>78,79</sup>, determinó que las ratas que no reciben ninguna fuente de vitamina B<sub>1</sub>, toleran la deficiencia de colina, pero si el metabolismo y el apetito son incrementados por la administración de tiamina, desarrollan intensa adiposis hepática, la que puede ser evitada por la adición de colina.

La vitamina B<sub>1</sub>, desempeña una función principal en el metabolismo de los hidratos de carbono, ejerciendo junto con su pirofosfato el efecto de una co-enzima en las diferentes fases del catabolismo glúcido y en las reacciones consecutivas a la glucólisis. En lo que al ácido pirúvico se refiere, esta acción de cofermento se manifiesta como descarboxilación simple y oxidativa, o como simple oxidación. Además de estas reacciones de desdoblamiento, la vitamina B<sub>1</sub>, parece catalizar también la resíntesis del ácido pirúvico a ácidos grasos. Así se explica probablemente la transformación de los hidratos de carbono en grasa, en presencia de

tiamina. La formación y acumulación de grasa en los órganos, favorecidos por la acción de la tiamina, se realiza además, de manera indirecta, por mejoramiento en el metabolismo graso, o por una activación de la insulina.

McHENRY y colab.<sup>80</sup>, encontraron en ratas jóvenes sometidas a dietas libres de colina un aumento en la proporción de grasa total en el cuerpo y también en el hígado, después de la administración oral de vitamina B<sub>1</sub>. Si se suprime la vitamina B<sub>1</sub>, de la dieta, y a la vez esta resulta pobre en colina, se observa por un corto tiempo solamente, aumento de la grasa hepática, debido a que en este intervalo todavía no se han agotado los almacenes de la vitamina B<sub>1</sub>. Dichos autores y WHIPPLE<sup>31</sup>, sugieren que la vitamina B<sub>1</sub>, intervendría en la conversión de los glúcidos en grasas.

Los mismos investigadores<sup>79</sup>, han confirmado que la adición de piridoxina y riboflavina a la dieta exageran el poder estimulante del apetito ocasionado por la tiamina, facilitando por su intermedio la formación de grasa a partir de los carbohidratos. La acción lipogénica de estas sustancias derivaría de su capacidad para incrementar el apetito y la combustión de los glúcidos. ENGEL<sup>38</sup>, no logró producir degeneración grasosa del hígado en ratas alimentadas con dietas que contenían tiamina, riboflavina y piridoxina y estaban exentas de colina. La piridoxina parece tener poco efecto por sí misma, pero cuando se le omite durante largo tiempo de la alimentación, la grasa llega a depositarse en el hígado. Esta infiltración resiste a la colina, pero no al inositol.

De otro lado, RALLI y RUBIN<sup>82</sup>, encontraron que grandes dosis de inositol (2 gr. por día), causa infiltración grasosa del hígado en los perros pancreatectomizados que se alimentan con polvos de carne que ordinariamente previenen la degeneración grasosa. FOLCH y WOOLLEY<sup>83</sup>, han informado que la cefalina del sistema nervioso central contiene inositol, considerando a esta vitamina como un constituyente esencial de los fosfátidos.

HANDLER y DANN<sup>84</sup>, han expresado que ni el exceso ni la deficiencia de ácido nicotínico ocasionan hígado graso; sin embargo, como la nicotinamida tiene la propiedad de combinarse con los factores dadores de metilo, para formar trigonelina, disminuiría la síntesis de la colina o la utilizaría con más facilidad que a la metionina, como fuente de grupos metilo.

En resumen, las vitaminas del complejo B, son de gran importancia para la movilización de los lípidos de los depósitos y para su metabolismo en el hígado. La tiamina y riboflavina, ocasionarían degeneración grasosa de la célula hepática porque estimulan el apetito, el metabolismo y el crecimiento, creando por lo tanto, una gran demanda de los factores lipotrópicos esenciales (colina y metionina), y favorecerían, además, la formación de grasas a partir de los carbohidratos.

La piridoxina y el ácido pantoténico, cuando se les administra a dosis elevadas, tendrían un efecto más específico: incrementan los requerimientos de colina e inositol, especialmente de este último. El inositol, aunque tiene acciones antagónicas, actuando en diversas circunstancias como agente lipotrópico, cuando se le administra a grandes dosis agrava la adiposis del hígado en los animales pancreatetectomizados. Por último, el ácido nicotínico en cantidades excesivas, utilizando el grupo metilo de la colina para formar trigonelina, induciría también a la esteatosis hepática.

Todos estos trabajos demostrarían que —a pesar de la opinión tan generalizada— las dosis excesivas de las vitaminas que integran el complejo B, no pueden ser administradas libremente sin dejarse de pensar en sus repercusiones en el organismo. Aunque todas las alteraciones señaladas han sido descritas en los animales de experimentación, que reciben dietas especiales, el uso incontrolado de estas vitaminas en la clínica, puede resultar contraproducente y perjudicial, si va acompañado de una alimentación insuficiente.

### 2º Otras alteraciones anatómicas del hígado

CONNOR<sup>85</sup> y PATEK<sup>86</sup>, han descrito que la infiltración grasosa prolongada, debida a dietas carenciadas: falta de proteínas, vitaminas y agentes lipotrópicos, etc., conduce a la cirrosis hepática, destacando en esta forma la importancia del régimen alimenticio en la génesis de este proceso.

De otro lado WANG y colab.<sup>87</sup>, en ratas sometidas a alimentación libre de proteínas, baja en colina y rica en grasas, han logrado producir esteatosis del hígado, la que se acompaña de otras lesiones parenquimatosas de la glándula, considerando que existe una relación directa entre la deficiencia nutritiva y el desarrollo de la cirrosis portal.

### C) *Alteraciones funcionales*

Es indudable que si las deficiencias nutritivas ocasionan una intensa alteración en la histología de la célula hepática, caracterizada por infiltración grasosa, también deben influir en su rendimiento funcional, el que debe estar tanto o menos alterado, según sea la magnitud de las lesiones anatómicas. Precisar este punto ha sido el afán de numerosos investigadores, y los diversos trabajos experimentales y clínicos llevados a cabo en los últimos años, han estado destinados, precisamente, a establecer la concordancia anatómica y funcional las lesiones hepáticas.

Así, los trabajos de MACLEAN, RIDOUT y BEST<sup>88</sup>, en ratas sometidas a dietas pobres en colina comprobaron que la adiposis del hígado no guardaba relación de paralelismo con el test de excreción de bromosulfaleína.

Más tarde HOUg y FREEMANN<sup>89, 90</sup>, en perros deficientes en proteínas demostraron que las lesiones de infiltración grasosa y de la permeabilidad de la célula hepática estaban acompañadas de aumento de la tasa de fosfatasa en el suero y retardo en la prueba del rojo de Bengala; y que dichas lesiones lograban ser modificadas al restituir a los animales a una alimentación normal o rica en caseína y albúmina de huevo. BEST y RIDOUT<sup>91</sup>, en nuevos experimentos en ratas, con dietas generadoras de hígado graso, hallaron que las cifras de urea y proteínas plasmáticas eran inferiores a las de los animales normales.

Igualmente, McKIBBIN y colab.<sup>92, 93</sup>, en perros con intensa degeneración grasosa del hígado encontraron alteraciones en los niveles de fosfatasa del suero, y en el test de excreción de la bromosulfaleína, mientras que en animales controles, alimentados normalmente, no observaron ninguna modificación histológica ni fisiológica de ese parénquima. Estos autores demostraron, asimismo, que los perros que reciben dietas libres de colina presentan cifras de altas de bromosulfaleína, entre 12 y 42 unidades, mientras los controles variaban entre 3 y 10 unidades. A la vez, el tiempo de protrombina estaba retardado y las cifras de colesterol total eran bajas; entre 40 y 83 mgs. % el colesterol libre y, entre 9 y 58 mgs. % el esterificado, mientras los controles tenían 90 a 158 mgs. %, y 57 a 95 mgs. %, respectivamente. La prueba de oro coloidal no presentó ninguna diferencia en ambos grupos.

De otro lado, LI y FREEMAN<sup>94</sup>, ha observado que los perros que presentan degeneración grasosa del hígado inducida por dietas ricas en grasas y baja en proteínas, tienen disminución en el test de excreción de rojo de Bengala, aumento de las fosfatas del suero; y que dichas alteraciones se acentuaban al administrárseles a los animales alimentos con alto contenido de colesterol. Posteriormente, los mismos autores<sup>95</sup>, han informado que los perros que reciben una ración pobre o excenta de proteínas tienen mayor susceptibilidad al envenenamiento con benceno.

Todas estas observaciones han sido verificadas por otros autores, habiéndose encontrado las mismas alteraciones en el fisiologismo hepático:<sup>54, 65, 56</sup>, y en las cifras de proteínas plasmáticas, volumen sanguíneo, hemoglobina circulante y espacio de tiocinato.<sup>87</sup>

Tales investigaciones experimentales han permitido demostrar que si bien no existe una estrecha relación de dependencia entre la esteatosis hepática y las alteraciones funcionales, en los casos de insuficiencia alimenticia, hay, en cambio la evidencia, de que las modificaciones estructurales están acompañadas de diversos trastornos de su fisiologismo.

## CAPITULO SEGUNDO

### DISTROFIA

I.—*Generalidades*: El niño necesita alimento tanto para crecer, como para mantener y conservar su salud. Para cumplir tales finalidades pone en juego el concurso de un sistema heterogéneo de sustancias: agua, proteínas, lípidos, hidratos de carbono, sales minerales, hormonas, enzimas, etc.

Según FILKENSTEIN<sup>96</sup>, la correcta proporción de cada uno de estos elementos en la alimentación, y su normal aprovechamiento por el organismo da lugar al estado de salud, es decir a la eutrofia; al contrario cuando por diversas circunstancias surgen perturbaciones en las funciones asimilativas, se originan trastornos nutritivos, cuya cronicidad conduce a la distrofia.

Resultaría así la distrofia, caracterizada como: "un trastorno nutritivo crónico, con disminución o estacionamiento de la curva ponderal y una extremada labilidad a las infecciones, y cuyo

punto de partida es casi siempre una carencia —carencia de cuidado y de alimento— que al prolongarse, tiene proyecciones futuras, que explican que el trastorno llegue a ser irreversible, aún cuando se recurra por fin, a una óptima terapéutica" GARRAHAN.<sup>97</sup>

II.—*Causas de la distrofia*: En la génesis de esta enfermedad del lactante, como lo han manifestado entre nosotros: KRUMDIECK<sup>3, 4</sup>, LEÓN GARCÍA<sup>6</sup>, MUÑOZ PUGLISEVICH<sup>98</sup>, etc., intervienen diversos factores tales como: a) alimenticios, b) infecciosos, c) constitucionales, d) maternos, y, e) sociales. Los tres primeros constituirían las causas eficientes de MARFAN<sup>99</sup>, los dos últimos, las coadyuvantes.

Pero, si bien es cierto, que numerosos casos de distrofia en el lactante obedecen a procesos infecciosos (sífilis, tuberculosis, etc.); y otros se consideran como dependientes de trastornos constitucionales, en la actualidad con los nuevos aportes de la Bioquímica, y el conocimiento que se tiene de la Fisiología y Patología de la nutrición, se tratan de explicar de acuerdo con las siguientes causas: a) Por una falta en el aporte de determinadas sustancias nutritivas (aminoácidos, factores lipotrópicos, vitaminas); b) Por mala regulación en las proporciones de los distintos constituyentes normales de la dieta (carbohidratos, lípidos y ciertas vitaminas del complejo B); y c) Por la insuficiente utilización y distribución en el organismo de los distintos principios asimilados, sea por la acción de una noxa o de cualquier otro agente que perturbe el normal desenvolvimiento del metabolismo general. Cualquiera que fuere el mecanismo de la hipocalimentación, daría como resultado una carencia específica o no, de los factores lipotrópicos, determinando entonces una alteración funcional y anatómica del hígado, lesiones que a su vez impedirían la recuperación del organismo, agravando el proceso y restando vitalidad al niño.

En efecto, los trabajos experimentales y clínicos realizados por numerosos investigadores, en los últimos años en el campo de la nutrición, han llevado a precisar que las deficiencias nutritivas más diversas pueden originar intensa degeneración grasosa del hígado y han demostrado, a la vez, el rol que desempeñan dichos trastornos, sobre el funcionamiento general del organismo<sup>20, 21, 32, 37, 39, 44, 45, 49, 52, 54</sup>, etc.

Estudiaremos algunas de las alteraciones de la bioquímica san-

guínea, y los trastornos anatómicos y funcionales del hígado encontrados en los casos de distrofia del lactante.

A) *Alteraciones de la bioquímica sanguínea en la distrofia:*

En 1940 MUÑOZ PUGLISEVICH<sup>98</sup>, emprendió por primera vez entre nosotros, el estudio de las alteraciones bioquímicas de la sangre en la distrofia. Comprobó que los niños que presentaban graves trastornos nutritivos (distróficos y atrépsicos), tenían cifras altas de proteínas totales y albúminas y baja de globulinas y de la razón A/G, interpretándolas como dependientes de una notable disminución del volumen sanguíneo, así como de una posible alteración de la célula hepática, que sería la encargada de la formación de las diversas fracciones proteínicas del plasma.

En 1942 LLOSA RICKEST<sup>100</sup> estudió los valores del colesterol en niños normales y distróficos, encontrando hipocolesterinemia en éstos últimos, con una cifra extrema de 53 mgs.%, en un caso de atrepsia.

El mismo año, CORNEJO BUSTAMANTE<sup>101</sup> analizó los valores hematológicos en la distrofia y toxicosis, obteniendo cifras bajas de hemoglobina circulante, hematocrito y en el número de hematíes, en los primeros, mientras los segundos mostraron signos evidentes de hemoconcentración.

En 1944, GARTNER<sup>102</sup> determinó las cifras de glicemia en distróficos, toxicócicos y niños normales, hallando que los primeros tienen una tasa de glucosa inferior a la de los normales. Poco más tarde CABALLERO MÉNDEZ<sup>103</sup> hizo un estudio sobre la ascorbinemia en el distrófico revelando que estos enfermos presentan hipovitaminosis C, de cierta intensidad.

MONTENEGRO<sup>104</sup> en 1945, investigó las variaciones de la acidez del jugo gástrico, comprobando que los distróficos son generalmente hipoclorhídricos. Estos estudios comprendieron la determinación del ácido clorhídrico libre y combinado, acidez total y activa y PH del jugo gástrico. Todos los valores en los casos de hiponutrición estuvieron por debajo de las cifras obtenidas en niños eutróficos. PETROZZI<sup>105</sup> hizo la determinación de fosfatasa alcalina, en el mismo tipo de enfermos hallando cifras elevadas en el 95% de los casos.

KRUMDIECK y MUÑOZ PUGLISEVICH<sup>11</sup> hicieron un minucioso estudio sobre la Bioquímica y Fisiopatología hepática en el distrófico,

encontrando cifras bajas de proteínas totales y albúminas plasmáticas, aumento de las globulinas y disminución de las tasas de bilirrubina total directa e indirecta y de colesterol, así como retardo en el tiempo de protrombina.

Finalmente CASTELLANO<sup>14</sup>, en 1948 determinó la bilirrubinemia en niños desnutridos habiendo comprobado aumento de la bilirrubina total, directa e indirecta casi en el 100% de los casos corroborando así los hallazgos obtenidos anteriormente por otros autores.<sup>11</sup>

De otro lado los trabajos experimentales efectuados por BOLLMAN, MANN y MAGATH<sup>106</sup>, en perros hepatectomizados, han permitido comprobar que cuando falta dicha glándula hay un considerable aumento de la concentración de aminoácidos en el torrente circulatorio y disminución del nivel de úrea en sangre y orina. LEWIS e IZUMI<sup>107</sup> en conejos intoxicados con hidrazina demostraron la imposibilidad de transformar la glicina en glucosa a causa de las alteraciones originadas a nivel del parénquima hepático. MARSHALL y ROWNTREE<sup>108</sup> estudiando el funcionamiento del hígado en los perros intoxicados con fósforo y cloroformo, comprobaron disminución de los niveles sanguíneos de úrea y glucosa y aumento en la concentración de aminoácidos. BANG<sup>106</sup> en las intoxicaciones con fósforo y STADER<sup>110</sup> con cloroformo, encontraron los mismos resultados.

Más tarde, BERRIGAN, BOLLMAN y MANN<sup>111</sup> estudiaron los efectos de la plasmoforesis en perros normales, parcial y totalmente hepatectomizados, con fístulas de Eck e intoxicados con tetracloruro de carbono. Comprobaron estos autores que los animales que habían sufrido hepatectomía total, intoxicación con tetracloruro de carbono o tenían fístula de Eck, eran incapaces de aumentar sus cifras de plasmoproteínas cuando se les sometía a una alimentación rica en prótidos. En cambio, los perros normales o parcialmente hepatectomizados mostraban una rápida recuperación de sus proteínas plasmáticas. En un experimento final realizado en perros en los que se efectuó plasmoforesis antes de la hepatectomía, encontraron que no se producía regeneración proteica, lo que sí se observó en los perros normales.

Finalmente, los trabajos de GRAY y GUZMÁN BARRÓN<sup>112</sup>, han contribuido a aclarar algunos conceptos sobre la estrecha relación que existe entre el funcionamiento hepático y algunas alteraciones bioquímicas de la sangre. Estos investigadores en los estudios electroforéticos del plasma de individuos normales y con diversas

lesiones hepáticas, han encontrado que cuando el hígado es asiento de algún proceso infeccioso o degenerativo, existen modificaciones cuanti y cuantitativas de las diversas fracciones de proteínas sanguíneas.

Por medio de la electroforesis, lograron separar del plasma normal cuatro tipos de proteínas, cuyos valores fueron los siguientes: albúminas 65%, alfa globulina 7%, beta globulina 14%, y gamma globulina 14%. En los casos de procesos parenquimatosos del hígado obtuvieron notables variaciones en las proporciones de dichas proteínas; así, en la cirrosis de tipo Laenec, las albúminas bajan a 31% y la gamma globulina sube a 59%, en cambio, en las ictericias mecánicas que no se acompañan de lesión hepática, el trazado electroforético del plasma no difiere fundamentalmente del normal.

GRAY<sup>13</sup>, en un trabajo posterior informó sobre el análisis electroforético de las plasmoproteínas de sujetos con diversas enfermedades hepáticas y concluye que el hígado lesionado, forma dos o más fracciones proteínicas de diferente constitución a las normales. Dichas modificaciones estructurales estuvieron caracterizadas por un gran aumento de la fracción gamma globulina y disminución de la sero-albúmina. Y aunque en las lesiones parenquimatosas el trazado electroforético no precisa una marcada modificación de la relación serina-globulina, la distribución de las globulinas alfa, beta y gamma fué siempre anormal. GRAY considera que en las hepatopatías existe un acentuado incremento de la beta-globulina, aunque en ningún momento llega a alcanzar las cifras de la gamma globulina.

Para GRAY, el hígado con lesiones parenquimatosas difusas, produce fracciones proteicas de gran peso molecular, que son almacenadas en la célula hepática en la forma de complejos proteínicos. Estos tipos de proteínas intermediarias, cuando falta el aporte alimenticio de materias nitrogenadas o aumentan las demandas orgánicas, son desdobladas con mayor facilidad en gamma globulinas, cuyo peso molecular es alrededor de 150.000 a 190.000, que en sero-albúmina, que pesan cerca de 75.000, demostrando que el hígado enfermo no es capaz de producir proteínas cuanti y cualitativamente normales.

En resumen, tanto los estudios experimentales como clínicos, llegan a demostrar que es necesario la actividad anatómica y funcional del hígado para que el metabolismo proteico, lípido e hi-

drocarbonado se efectúe normalmente. Se sabe que la glándula hepática interviene fundamentalmente en la deaminación de las proteínas (aminoácidos), en la formación de cuerpos intermedios (urea, creatina, etc.); en la síntesis y la transformación del glucógeno, formación de fosfolípidos, fosfatasa, metabolismo del colesterol, etc.; funciones que se ven notablemente afectadas cuando existe un trastorno anatómico o funcional de este parénquima.

#### B) *Alteraciones anatómicas del hígado en los estados de desnutrición infantil*

En la distrofia del lactante, se han descrito diversas alteraciones histológicas del hígado. En el Perú, el primer trabajo fué publicado en 1947<sup>11</sup>, habiéndose encontrado en las biopsias: infiltración del tejido conjuntivo por células linfoplasmáticas, degeneración grasosa de grados variables, y lesiones de la célula misma, del tipo de la vacuolización citoplasmática y picnosis nuclear. Posteriormente<sup>14</sup>, se hallaron en las necropsias de niños fallecidos durante el curso de una distrofia, que las lesiones hepáticas macroscópicamente estaban caracterizadas por un color amarillento de la glándula y engrosamiento de la cápsula; y microscópicamente por esteatosis a grandes gotas de distribución perilobulillar, habiendo muchas células convertidas en una vesícula adiposa; las células del centro de los lobulillos se conservaban más o menos normales. Existía además, escasos elementos venosos y discreta infiltración a células redondas en los espacios porto-biliares, y poco aumento de la trama conjuntiva.

De otro lado, GILLMAN y GILLMAN<sup>9</sup>, realizaron un interesante estudio en niños pelagrosos y mediante biopsias, analizaron las lesiones existentes en el hígado, a las que clasificaron en tres categorías.

La primera forma, descrita por GILLMAN y GILLMAN, se caracteriza por intensa infiltración grasosa, distribuida difusamente, del tipo de gota única, y que envuelve casi totalmente a la célula hepática. Muchas veces no llega a apreciarse núcleo celular; los sinusoides son escasos y están cerrados. El hígado muestra un aspecto avascular. En este grado de adiposis, los espacios porto-biliares se identifican con dificultad, pues existe un notable aumento del tamaño de los lobulillos.

En la segunda forma, la infiltración grasosa no es tan absoluta como la anterior. Las células contienen múltiples gotitas de grasa y muchas muestran una sola que ocupa toda la célula. Los núcleos de las células son de diverso tamaño y de forma irregular, y han sufrido procesos de cromatolisis, fenómeno que se observa principalmente a nivel de los espacios porto-biliares. Los elementos venosos intra y extralobulillares están cerrados. Algunas células de Kupffer, presentan infiltración grasosa. Hay infiltración a células redondas, abundante tejido conjuntivo y fibras colágenas engrosadas.

La tercera etapa, se caracteriza por la existencia de células con abundante contenido de grasa y otras que no la tienen. El tipo de infiltración es predominantemente de pequeñas gotitas, dispersas en el interior de las células. En los espacios portales, hay una marcada infiltración de células redondas. Las sinusoides están abiertos, y en su interior se observan algunas células de Kupffer, de aspecto aparentemente normal.

Finalmente, MENEGHELO<sup>114</sup>, en distróficos policarenciales ha confirmado los hallazgos de GILLMAN y GILLMAN, habiendo seguido un poco más la evolución de la esteatosis del hígado, y ha agregado una etapa más a los tipos de adiposis hepática descritos anteriormente. En esta cuarta etapa, la infiltración se manifiesta por la existencia de una que otra gotita de grasa, de tamaño pequeño. Los elementos venosos están completamente abiertos y contienen abundantes glóbulos rojos y discreta proliferación de sus elementos celulares. El citoplasma de las células muestra un aspecto turbio o granuloso, correspondiendo al tipo de la tumefacción turbia o degeneración granular, existiendo muchas células de aspecto normal.

En resumen, los estudios anteriormente señalados confirman que en los casos de distrofia o síndromes policarenciales en el lactante, existen lesiones anatómicas del hígado, que se caracterizan histológicamente por infiltración grasosa de sus células, de grado variable, aunque no muestra relación con la magnitud de la deficiencia alimenticia y general del niño. Ya, en el capítulo *Hígado y Metabolismo*, hemos revisado las causas dietéticas que pueden ocasionar adiposis del hígado.

### C) *Alteraciones funcionales del hígado en la distrofia*

Hemos establecido en otro capítulo anterior, la estrecha relación que existe entre los trastornos anatómicos y funcionales del hígado. Sólo nos limitaremos a analizar los estudios más recientemente efectuados sobre el comportamiento de diversas pruebas empleadas para medir la capacidad funcional del hígado, en los casos de distrofia.

En el Perú, los que iniciaron este tipo de estudios fueron KRUMDIECK y MUÑOZ PUGLISEVICH, en 1947. Dichos autores encontraron que los lactantes distróficos presentaban retardo en la excreción de la bromosulfaleína, positividad intensa de la reacción de cefalina-colesterol, curva alta de tolerancia a la glucosa y retardo del tiempo de protrombina. Más tarde, se realizaron nuevos trabajos, encontrándose que el 92% de los distróficos presentaban positividad, de intensidad variable, para la prueba de HÁNGER<sup>12</sup>; aumento de las cifras de bilirrubina total, directa e indirecta<sup>14</sup>, y positividad para las pruebas funcionales de floculación de cefalina-colesterol, timol y oro coloidal, superior al 90% de los casos.<sup>15</sup>

DELGADO MARTÍNEZ<sup>115</sup>, en Chile, observó que los distróficos mostraban alteración en la prueba del ácido hipúrico, con un promedio de excreción de 0.87 gramos de la droga, en relación con 1.23 gramos, obtenida en niños normales. Asimismo, las pruebas de cefalina-colesterol, fueron manifiestamente positivas en los distróficos, y había un gran retardo del tiempo de protrombina, lo que no se observaba en niños normales.

Ultimamente MENEGHELLO<sup>114</sup>, ha efectuado un interesante estudio del comportamiento de las pruebas de oro coloidal, rojo escarlata, cefalina colesterol, timol y Takata-Ara, durante el tratamiento de distróficos, y las ha relacionado con el grado de esteatosis del hígado que presentaban estos enfermos. Dicho autor ha encontrado que todas las pruebas dan una elevada positividad, con diversos grados de intensidad, y que no muestran una relación de paralelismo entre la gravedad de la esteatosis y la floculación, ya que algunos casos con gran adiposis del hígado dan reacciones débilmente positivas, mientras otros en que en la esteatosis es menor, floculan intensamente las distintas soluciones empleadas. Sin embargo, observó que todas las pruebas disminuían de intensidad a medida que mejoraba el cuadro clínico y el niño retornaba a ser normal.

En resumen, se ha demostrado mediante numerosas pruebas funcionales del hígado que existen trastornos en el fisiologismo de esta glándula. La mayor parte de los autores están de acuerdo que la esteatosis que se observa en los distróficos no guardan relación con la intensidad de las reacciones, sugiriendo que deben existir otras alteraciones hepáticas responsables, de este hecho, y que el mecanismo íntimo de la floculación de las suspensiones y coloides, dependería de la modificación de las distintas fracciones de proteínas plasmáticas y algunos otros componentes sanguíneos.

### CAPITULO TERCERO

#### ESTUDIO EXPERIMENTAL \*

Los estudios de ADDIS, POO, LEW<sup>19, 20</sup>, STEETEN y GRAIL<sup>32</sup>, BEST, CHANNON y RIDOUT<sup>116</sup>, WANG, HEGSTED<sup>117</sup>, y otros, han demostrado que los animales sometidos a una alimentación exenta de proteínas o agentes lipotrópicos y rica en grasas, desarrollan intensa infiltración grasosa del hígado, al mismo tiempo que muestran alteraciones funcionales de esta glándula, de mayor o menor intensidad, según la magnitud del daño hepático.

Nosotros hemos efectuado un estudio experimental en ratas blancas, con el propósito de comprobar, primero, las alteraciones anatómicas de la célula hepática originadas por la carencia proteica, y luego observar el comportamiento de las pruebas de floculación, proteínas plasmáticas, hemoglobina y peso, con el establecimiento progresivo de la esteatosis.

Los resultados obtenidos nos han servido para interpretar las modificaciones anatómicas y funcionales del hígado que presentan los distróficos policarenciales, desde que, en su etiología, deben intervenir factores similares a los encontrados hasta hoy en el campo experimental.

\* Agradecemos al Instituto Sanitas las facilidades prestadas para la realización de este trabajo.

### I. Material y métodos

A) *Material de trabajo*: El estudio se realizó en un lote de 15 ratas blancas, de 4 a 5 semanas de edad, cuyo peso oscilaba entre 80 y 90 gramos en el momento en que fueron sometidos a la prueba. Los animales fueron divididos en tres lotes: N, A y B; de acuerdo al tipo de alimentación que recibían.

La selección para los lotes así como la individual de cada experimento, se realizó al azar, a fin de que los resultados obtenidos fuesen homologables. Los animales estuvieron sometidos a los siguientes tipos de dieta:

*Lote N*: Alimentación normal (leche, pan, cebada, maíz, trigo).

*Lotes A*: Alimentación exenta de proteínas<sup>117</sup>, consistente en: azúcar refinada 85%, aceite de maíz purificado 6%, aceite de hígado de pescado 5%, mixtura de sal 4%. La dieta contenía 30 mgs. de cloruro de colina, por cada 100 gramos, porque se considera que es la mínima cantidad requerida para la supervivencia de los animales<sup>45</sup>.

Se procuró además, que la ración suministrara las cantidades normales de vitaminas. Utilizamos con este fin 0.10 grs. de *Vítaton* gotas, por cada 100 gramos de alimento.

*Lote B*: Alimentación normal más un suplemento de aminoácidos. Empleamos hidrolizado de caseína en polvo: *Hidroamín en polvo*, en la proporción de 15 gr. por %.

Las cantidades de alimento fueron calculadas para cada lote de animales, y se administraron ad libitum.

B) *Métodos de estudio*: Los estudios realizados en cada rata fueron los siguientes:

- a) Determinación del peso.
- b) Dosaje de proteínas totales por el método de GREEMBERG<sup>118</sup>.
- c) Dosaje de hemoglobina (técnica del ácido hematínico y lectura en el fotocolorímetro KLETT<sup>119</sup>).
- d) Pruebas funcionales hepáticas de floculación: Cefalina-colesterol (HANGER<sup>120</sup>). Timol, (NEEFE<sup>121</sup>) y Oro Coloidal, (MAGLAGAN<sup>122</sup>).
- e) Determinación de peso del hígado.
- f) Estudio histopatológico del hígado por cortes en congelación, de 15 micras de diámetro y coloreados con hematoxilina-eosina y ácido ósmico-eosina.

Todas las determinaciones se verificaron cada cuatro días, es decir a los 4, 8, 12, 16 y 21 días. En cada control se tomó un animal de cada serie. Las muestras de sangre fueron obtenidas por decapitación. Los exámenes bioquímicos y pruebas funcionales se llevaron a cabo entre 30 minutos y 2 horas después de haber sido sacrificado el animal.

## II. Resultados

En el Cuadro N<sup>o</sup> 2, se expresan los resultados obtenidos en los controles del peso corporal y peso del hígado, en los animales sacrificados en cada experimento.

Analizando las cifras consignadas, podemos deducir los siguientes hechos:

A) Que durante los 4 primeros días, el aumento de peso en los animales controles (*Lote N* y *B*), es prácticamente el mismo, y no muestra variaciones significativas, pues ambos grupos han alcanzado un aumento de peso corporal de 10%. En cambio, la disminución del peso de las ratas con dietas libres de proteínas, llega a 11.7%, del peso promedio. El peso del hígado en los animales de los *Lotes N* y *B*, no experimentó ninguna modificación, mientras en el *Lote A*, ha sufrido una pérdida del 20%. Esto demostraría que la reducción del peso del hígado en los primeros días de deplección proteica es mucho más acentuada que la del peso corporal.

B) El incremento del peso corporal en los animales del *Lote N* y *B*, a los 8 días es semejante, y equivale al 15.4%, del peso promedio, pero no fué seguido de aumento en el peso del hígado. En los animales del *Lote A*, la disminución de peso orgánico fué del 14.1%, y la del hígado se mantuvo en la cifra de los 4 días.

C) A los 12 días, el aumento de peso corporal fué de 20% en el *Lote N*, y 23% en el *Lote B*, incrementándose el peso del hígado en 10% en ambos grupos. La pérdida de peso en el *Lote A*, fué de 17.6%, y la del hígado permaneció estacionaria.

D) A los 16 días, las ratas del *Lote N* aumentaron en un 33% el peso corporal y 20% el peso del hígado, mientras las del *Lote B*, mostraron una alza de 35.4% y 24%, para el peso corporal y del hígado, respectivamente. Los animales del *Lote A*, no experimentaron mayor disminución en el peso corporal, en cambio el hígado llegó a reducir el 24% de su peso.

CUADRO Nº 2

VARIACIONES DEL PESO CORPORAL Y PESO DEL HÍGADO EN RATAS SOMETIDAS A  
DIVERSOS TIPOS DE ALIMENTACIÓN \*

P. corporal: 83 a 90 grs.

P. Hígado: 5 grs.

Días	Lote N. (normal)			Lote A. (libre proteínas)			Lote B. (hiperproteica)		
	P. corp. grs.	%	P. hígado grs.	P. corp. grs.	%	P. hígado grs.	P. corp. grs.	%	P. hígado grs.
4	94	+10.5	5	75	-11.7	4	93	+9.4	5
8	98	+15.4	5	73	-14.1	4	98	+15.4	5
12	102	+20.0	5.5	70	-17.6	4	105	+23.5	5.5
21	113	+33	6	70	-17.6	3.8	117	+35.4	6.2
16	121	+42.3	6.5	68	-20.0	3.8	132	+56.4	7.0

\* Los resultados consignados en el presente cuadro están expresados en relación con los valores medios obtenidos antes de la prueba.

E) Finalmente, a los 21 días, las ratas del Lote N, habían aumentado 42.3%, de peso corporal y 30% en el del hígado; las del Lote B, en 56.4%, y 40%, para ambas determinaciones. En cambio, las ratas sometidas a alimentación libre de proteínas habían disminuído el 20% del peso corporal y 24% el peso del hígado.

Como se ve, comparando los porcentajes de pérdida de peso, se encuentra que en los primeros días de privación proteica en las ratas, la disminución del peso es más elevada en el hígado que en el organismo, y que a medida que transcurren los días, el porcentaje de pérdida de peso hepático permanece estacionario, en tanto que se acentúa el correspondiente al organismo. Al cabo de tres semanas, los porcentajes llegan a igualarse. Si se relacionan entre sí las cifras porcentuales parciales, se obtiene que mientras el hígado presenta una pérdida de peso inicial, brusca, ésta no se incrementa sino muy ligeramente durante los días de privación, en cambio, siendo la disminución de peso orgánico menor, se intensifica en forma progresiva.

*Hemoglobina:* En el Cuadro N° 3, se expresan los resultados obtenidos en las determinaciones de hemoglobina circulante en los animales sometidos a diversos tipos de dieta, en el curso de la experiencia.

CUADRO N° 3

VARIACIONES DE LAS CIFRAS DE HEMOGLOBINA EN RATAS  
SOMETIDAS A DIVERSOS TIPOS DE ALIMENTACIÓN

Hemoglobina Media Normal: 12.28  $\pm$  0.40

Días	Lote N. (normal)		Lote A. (libre proteínas)		Lote B. (hiperproteica)	
	Grs. %	%	Grs. %	%	Grs. %	%
4	12.29	100	11.07	91.3	12.17	99
8	12.25	100	10.90	90.1	12.52	+2.02
16	12.33	100	10.24	83.8	12.78	+4.10
16	12.35	100	10.02	81.6	13.10	+6.80
21	12.27	100	9.70	78.7	13.65	+10.5

Analizando las cifras del cuadro anterior, podemos obtener las siguientes conclusiones:

A) Que las cifras de hemoglobina en los animales que recibían alimentación normal, *Lote N*, oscilaron entre 12.25 y 12.35 grs. con un valor medio de 12.28 grs. % y E. S.  $\pm 0.40$ .

B) Las ratas que estuvieron sometidas a alimentación rica en proteínas (aminoácidos), incrementaron su nivel de hemoglobina en 10.5%, del valor medio, obtenido para las ratas del *Lote N*, después de 3 semanas.

C) En cambio, en los animales del *Lote A* (alimentación exenta de proteínas) la cifra de Hb. descendió progresivamente hasta 9.70 grs. %, igual al 78.7% del valor medio normal. Así mismo, la reducción del valor de la Hb., fué más acentuada en los primeros días de privación proteica.

*Proteínas:* En el Cuadro Nº 4, se dan los valores obtenidos para las plasmoproteínas, durante el curso de la experiencia.

#### CUADRO Nº 4

##### VARIACIONES DE LAS CIFRAS DE PLASMOPROTEÍNAS EN RATAS SOMETIDAS A DIVERSOS TIPOS DE ALIMENTACIÓN

Valor Medio Normal: 3.88  $\pm$  E. S. 0.34

Días	Lote N.		Lote B.		Lote A.	
	Grs. %	%	Grs. %	%	Grs. %	%
4	3.92	100	3.71	95.1	3.89	100
8	3.85	100	3.62	93.2	3.91	100
12	3.91	100	3.47	89.3	3.98	+2.5
16	3.87	100	3.40	87.5	4.07	+7.5
21	3.89	100	3.25	85.5	4.10	+7.7

Examinando las cifras del cuadro anterior, tenemos los siguientes datos:

A) Que las cifras de plasmoproteínas en las ratas sometidas a alimentación normal han tenido un valor medio de 3.88 grs. %, con un E. S. de  $\pm 0.34$  y cifras extremas de 3.85 y 3.92 grs. %.

B) Los valores obtenidos en los animales privados de toda fuente proteica, oscilaron entre 3.71 grs. % a los 4 días de la

prueba, a 3.25 grs. %, a los 21 días, habiendo experimentado, por tanto, una reducción de 14.5%, en relación con la cifra media de los controles.

C) En los animales que recibieron dieta rica en aminoácidos (10 grs. por cada 100 de ración), las cifras de proteínas totales del suero variaron de 3.89 grs. % a 4.10 grs. %, a los 4 y 21 días, respectivamente de iniciada la experiencia, incrementándose en 7.7 % respecto a la media de los animales normales.

D) Analizando las variaciones porcentuales individuales, en el curso de la experiencia, se obtiene que los animales que se alimentaron con dieta exenta de proteínas sufrieron una gradual reducción en la tasa de sus plasmoproteínas, que fué acentuándose a medida que se prolongaba la privación, pero sin mostrar en ningún momento una brusca caída de su nivel, como en los casos del peso corporal y hemoglobina. Parecería que las plasmoproteínas guardasen cierta relación de paralelismo con la disminución del peso corporal, pues sus valores, se reducen paulatinamente, y de modo semejante en ambos casos.

*Pruebas hepáticas de floculación:* Las determinaciones de las pruebas hepáticas de floculación se realizaron en 1 rata de cada lote, a los 4, 8, 12, 16 y 21 días de estar sometidas a un tipo especial de alimentación. Todas las experiencias se realizaron en suero. Los exámenes fueron efectuados antes de las dos horas de haber sido obtenidas las muestras de sangre. En el Cuadro N° 5, se han agrupado los resultados obtenidos para cada una de las reacciones empleadas.

CUADRO N° 5

COMPORTAMIENTO DE LAS PRUEBAS HEPÁTICAS DE FLOCULACIÓN EN RATAS  
SOMETIDAS A DIVERSOS TIPOS DE ALIMENTACIÓN

Días	Lote N. (normal)			Lote A. (libre proteínas)			Lote B. (hiperproteica)		
	Cef. C	Timol	Oro	Cef. C	Timol	Oro	Cef. C	Timol	Oro
4	—	—	0	+	+	N° 2	—	—	0
8	+	—	0	++	+	N° 2	—	—	0
12	—	—	0	++	++	N° 2	—	—	0
16	—	—	0	++	+++	N° 2	—	—	0
21	—	—	0	++	++	N° 3	—	+	0

Examinando el cuadro se tiene:

A) Que las pruebas hepáticas de floculación: cefalina-colesterol, timol y oro coloidal, son negativas tanto en los animales que reciben dieta normal como hiperproteica (Lotes N y B), y no muestran entre sí, ni entre Lotes, ninguna variación significativa.

B) Que las ratas alimentadas con dieta excenta de proteínas (Lote A), dan respuestas positivas de poca intensidad hasta el 8º día, para presentar reacciones de mayor intensidad al 16º día. Las reacciones de timol y cefalina no aumentaron de floculación más allá de esta fecha, en cambio la del oro coloidal, sufrió un ligero incremento en el grado de intensidad de su respuesta en el último control.

Estos resultados demostrarían que la privación de sustancias proteicas, en las ratas ocasiona alteraciones funcionales del hígado que se traducen por respuestas positivas, de intensidad variable, de las pruebas de floculación.

*Estudio histopatológico del hígado:* El estudio del hígado de los animales sacrificados, nos dió el siguiente resultado:

a) *Alteraciones macroscópicas:* En los animales que recibían dieta libre de proteínas (Lote A), a los 4 días, el hígado aparecía más pálido que el de los controles (Lote N) o con alimentación hiperproteica (Lote B). A los 8 días, estaba mucho más acentuada la palidez. A los 12 días, mostraba una apariencia granulosa y tinte ligeramente amarillento. A los 16 y 21 días, estas manifestaciones eran más intensas.

b) *Alteraciones microscópicas:* Solamente se realizó estudio histopatológico en dos oportunidades, a los 8 y 21 días. Los cortes se hicieron por congelación y a un espesor de 15 micras. Las coloraciones empleadas fueron las de hematoxilina-eosina y ácido ósmico-eosina.

Los cambios histológicos correspondieron de modo general a los observados por otros investigadores:<sup>21, 67</sup>, etc. en animales sometidos a dietas similares a las empleadas en este trabajo.

Las lesiones encontradas a los 8 días en los animales que estuvieron privados de proteínas fueron las siguientes:

1º Alargamiento de las células hepáticas, principalmente a nivel de las áreas periféricas de los lóbulos. El citoplasma celular era denso y de aspecto granular, correspondiente al tipo de tumefacción turbia. El núcleo se mostraba intensamente picnótico. Los sinusoides estaban congestionados y obliterados, conteniendo gran

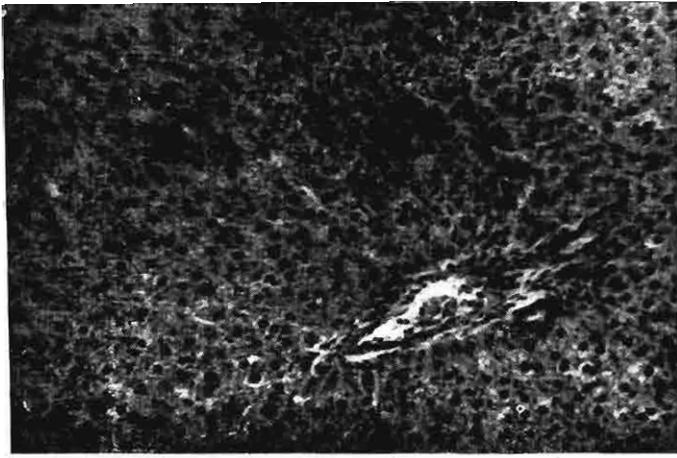
cantidad de elementos formes de la sangre. Había gran hiperplasia reticular, pudiendo observarse mitosis en algunas células de Küpffer. Los elementos venosos intra y extralobulillares, estaban intensamente congestionados. La arquitectura de los lobulillos se encontraba apreciablemente disociada. (Microfotografías 1, 2, 3, 4).

En las coloraciones con ácido ósmico-eosina, se encontró infiltración grasosa de grado variable, a predominio de gota pequeña, que rechazaba el núcleo hacia un polo y contra la membrana celular. La infiltración era más acentuada en las zonas periportales y debajo de la cápsula.

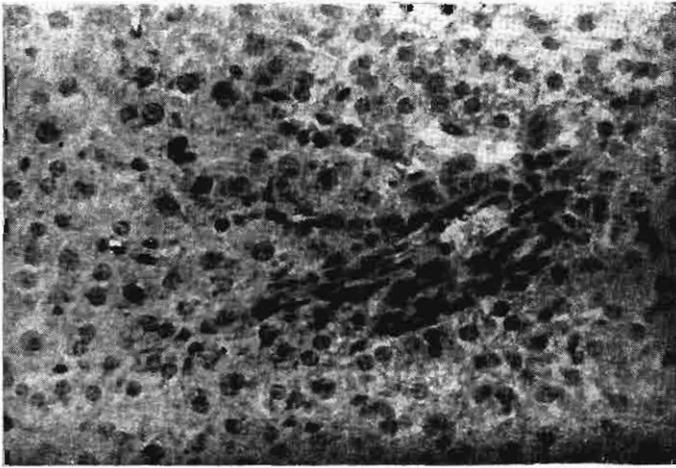
2º A los 21 días, la arquitectura del parénquima hepático estaba completamente distorsionada; las células aparecían hinchadas, la hiperplasia de los elementos del retículo endotelio era sumamente intensa. El citoplasma tenía un aspecto vacuolar. El núcleo de algunas células tenían forma alargada, era intensamente picnótico y en otras, parecía haber sufrido un proceso de mitosis. Los elementos venosos intra y extralobulillares estaban obliterados en algunas áreas, y congestionados en otras. La adiposis era bien manifiesta, predominando el tipo de infiltración a gota gruesa, principalmente a nivel de los espacios porto-biliares. Debajo de la cápsula la grasa también se había acumulado en el interior de las células, existiendo algunas células de Küpffer, con pequeñas gotitas de grasa. (Microfotografías 5, 6, 7, 8, 9 y 10).

3º En los animales normales, la arquitectura del hígado era distinta. Las células eran claras, el núcleo redondo y uniforme, la cromatina nuclear estaba bien distribuída, el citoplasma claro y homogéneo. La arquitectura lobulillar no mostraba ninguna alteración y los elementos venosos estaban abiertos y limpios (Microfotografía Nº 11). En las ratas con alimentación hiperproteica, la apariencia de los cortes era mucho más perfecta, apreciándose una magnífica arquitectura de los lobulillos. Las células tenían una disposición más homogénea, los núcleos eran redondos y uniformes.

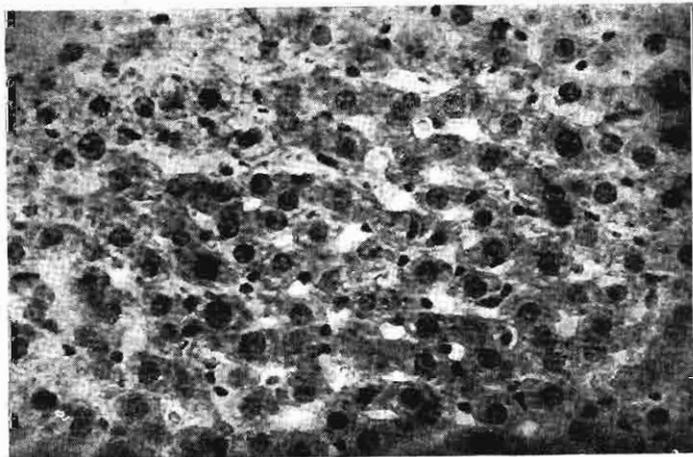
*En resumen:* El estudio experimental realizado en ratas sometidas a alimentación libre de proteínas y baja en colina, demuestra que se presentan alteraciones anatómicas y funcionales del hígado, de grado variable, y que las pruebas hepáticas de floculación se tornan positivas desde los primeros días de privación proteica. Igualmente es posible observar que los animales experimentan notable pérdida del peso corporal y peso del hígado, disminución de las cifras de plasmoproteínas y de hemoglobina, tanto más acen-



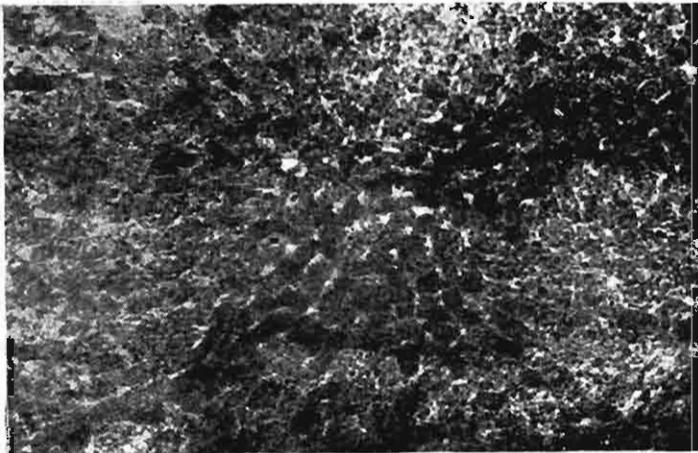
*Micro. 1.—Intensa hiperplasia reticular. Espacio porta congestionado. Tumefacción turbia. Aumento.*



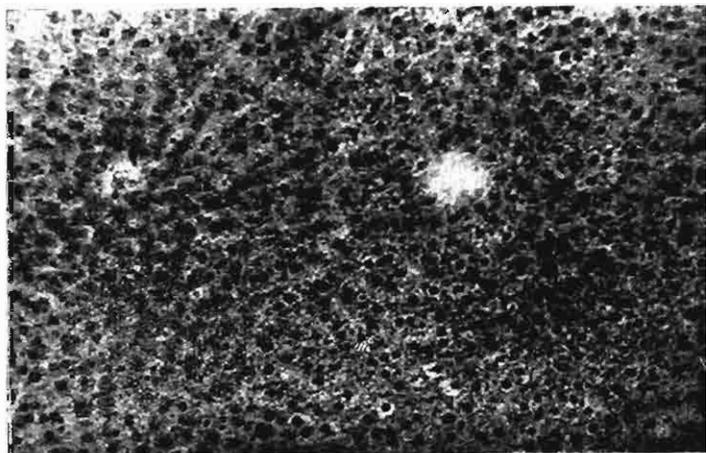
*Micro 2.—Hiperplasia reticular intensa. Rarefacción del citoplasma. Pícnosis nuclear. Congestión portal. Precipitaciones pigmentarias. Aumento  $\times 350$ .*



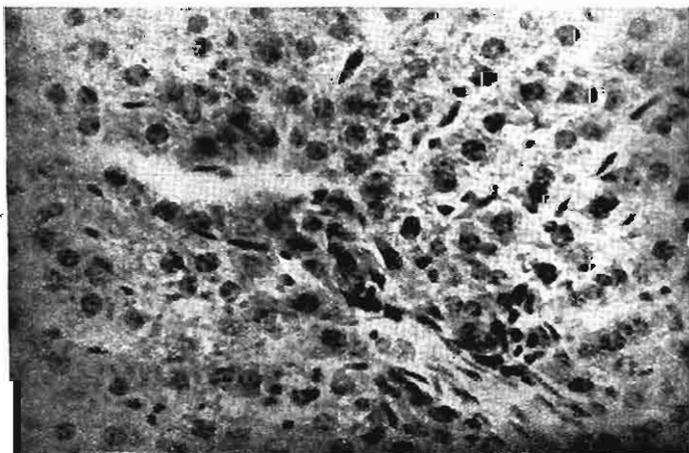
*Micro 3.—Pícnosis nuclear. Mitosis de las células de Kupffer. Rarefacción del citoplasma. Aumento  $\times 350$ . Col. hematoxilina-eosina.*



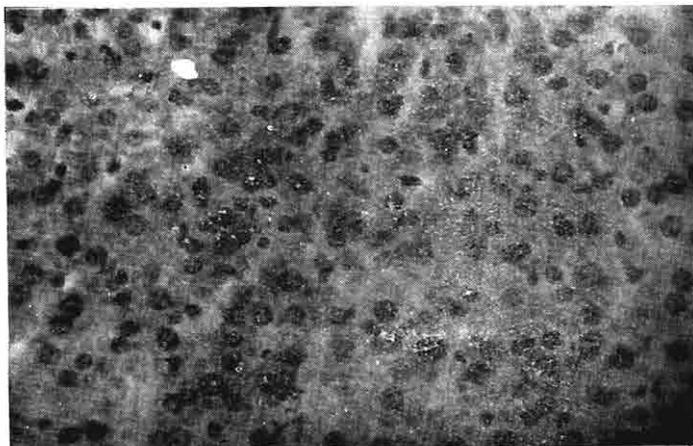
Micro 4.—Degeneración grasosa periportal. Col. ác. ósmico-eosina.



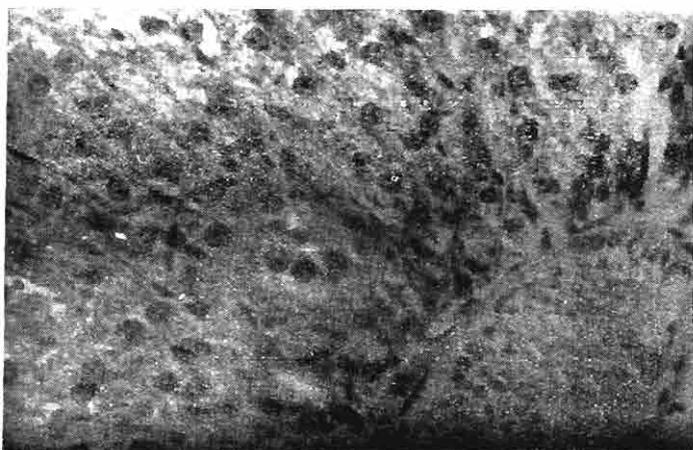
Micro 5.—Hiperplasia reticular más acentuada. Desorganización de la arquitectura trabecular. Precipitación de pigmento. Aumento.



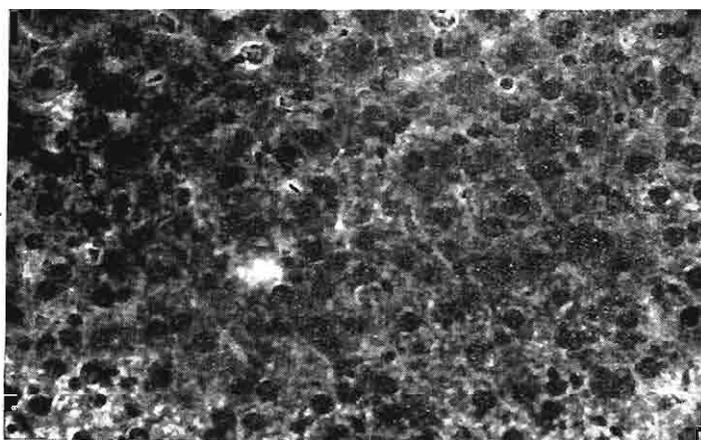
Micro 6.—Alteración de las trabéculas hepáticas. Congestión venosa extrolobulillar. Rarefacción del citoplasma con precipitaciones pigmentarias. Mitosis celular. Aumento  $\times 350$



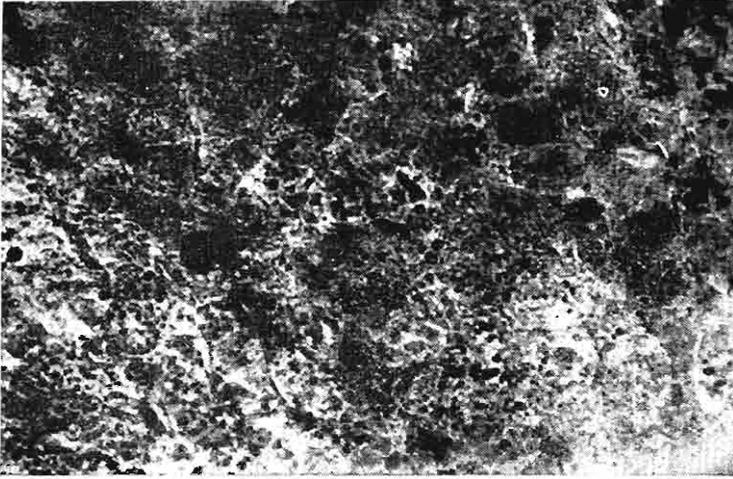
*Micro 7.—Tumefacción turbia.—Distorsión trabecular. Rarefacción citoplásmica. Zonas de clarificación celular cetrolobulillar.*



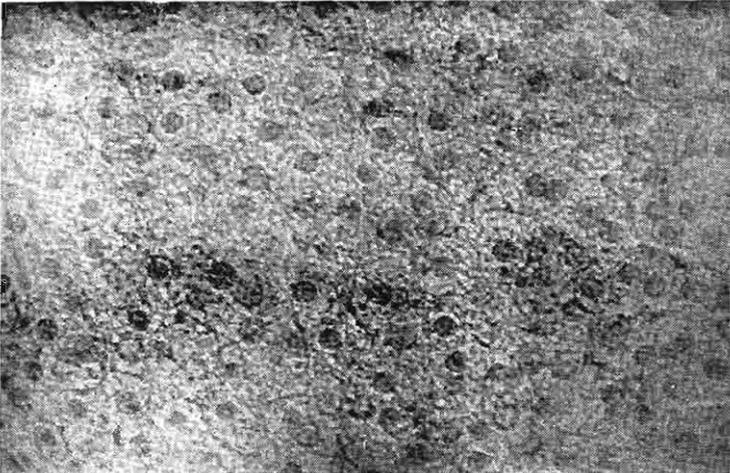
*Micro 8.—Intensa congestión venosa. Distorsión trabecular. Precipitaciones pigmentarias.*



*Micro 9.—Intensa distorsión trabecular. Vacuolización citoplásmica. Precipitaciones pigmentarias. Mitosis celular.*



*Micro 10.—Degeneración grasosa y finas granulaciones pigmentarias. Col. ác. ósmico-eosina.*



*Micro 11.—Corte de Hígado Normal. Obsérvese la perfecta disposición celular.*

tuadas cuanto más dura el período de administración de la dieta experimental.

#### CAPITULO CUARTO

##### BASES PARA EL TRATAMIENTO FISIOPATOLOGICO DE LA DISTROFIA

Aunque no se está universalmente de acuerdo de que la patogenia de la cirrosis humana sea similar a la de los animales de experimentación, muchos consideran que la degeneración grasosa representa la fase intermedia de la cirrosis hepática.

Conociéndose desde hace poco que causas dietéticas pueden inducir en diversos animales una degeneración grasosa del hígado; y de otro lado, que existen sustancias llamadas lipotrópicas, capaces de prevenir y curar dichas lesiones, numerosos autores las han empleado en la cirrosis hepática humana. BROUN y MUETHER<sup>123</sup>, BEAMS<sup>124</sup>, BARKER<sup>125</sup>, etc., y entre nosotros ANGULO BAR<sup>126</sup>, DELGADO FEBRES<sup>127</sup>, TORRES<sup>128</sup>, VILA ACUÑA<sup>129</sup>, y otros, han puesto de manifiesto los beneficios del tratamiento del cirrótico con las sustancias lipotrópicas: colina, metionina, etc., y destacado a su vez, el progreso terapéutico que significa su introducción en la Clínica.

Si a ésto agregamos que numerosos estudios efectuados en *Clínica Pediátrica*, <sup>9, 11, 15, 114, 115</sup>, demuestran que en el *Lactante Distrófico* existen trastornos funcionales y lesiones anatómicas del Hígado del Tipo de Degeneración Grasosa, el uso de los agentes lipotrópicos encuentra su justificación en Pediatría.

Teniendo en cuenta tales hallazgos, iniciamos el tratamiento de los Niños Distróficos, con *Hidrolizado de Caseína (Aminoácidos)*, y *Cloruro de Colina*.

*Aminoácidos*: Las proteínas están constituidas por un gran número de aminoácidos, los que son liberados mediante la digestión. Estas sustancias son componentes esenciales de todos los tejidos vivos. Normalmente integran el protoplasma y el núcleo celular y desempeñan papeles de transcendental importancia en todos los fenómenos vitales, sea actuando como fermentos digestivos o del metabolismo intermediario o como hormonas y anticuerpos. En el organismo celular se produce constantemente una desintegración de la molécula proteica, la que sólo puede ser recons-

truída por síntesis a partir de los aminoácidos provenientes de la alimentación. Finalmente, estas fracciones proteicas, no solamente intervienen en las funciones de crecimiento, sino también en el mantenimiento de un buen balance nitrogenado. La administración oral o parenteral de aminoácidos, como lo han comprobado SHOLL, BLACKAN y MACLACHALAN<sup>130</sup>, COX y MULLER<sup>131</sup>, HARTMANN y colab.<sup>132</sup>, ELMAN y LISCHER<sup>133</sup>, FARR<sup>134</sup>, permite mantener un balance nitrogenado positivo en los casos de déficit proteico o en enfermedades infecciosas que ocasionan gran disminución de las plasmoproteínas.

Casi todos los estudios sobre aminoácidos indispensables en nutrición, se refieren a experimentación en la rata blanca, para la que se han establecido diez aminoácidos esenciales: triptófano, fenilalanina, metionina, argina, histidina, lisina, treonina, valina, leucina e isoleucina. ROSE<sup>135</sup> y ROSE, HEINS y JOHNSON<sup>136</sup>, han estudiado los aminoácidos esenciales para el equilibrio nitrogenado en el hombre, comprobando que si bien la arginina e histidina no son indispensables para el mantenimiento del balance nitrogenado del adulto, si lo son para el organismo en crecimiento.

En *Clínica*, el empleo de los aminoácidos se basaría fundamentalmente en la necesidad de ayudar a conservar aquellas funciones vitales que requieren nitrógeno, tales como:

- a) En los procesos de crecimiento.
- b) En los procesos de reparación.
- c) En los procesos de detoxificación.
- d) En la formación de hormonas y enzimas.
- e) En la síntesis de la hemoglobina y otros pigmentos respiratorios.

En consecuencia, la administración de aminoácidos estaría indicada de manera especial en todos los casos en que la carencia proteica es manifiesta y no llega a satisfacer las demandas orgánicas. Por ejemplo:

1º Cuando se quiere mantener un balance nitrogenado positivo, alterado por diversas causas (procesos infecciosos, trastornos gastro-intestinales, anorexia, etc.).

2º Cuando se desea corregir las hipoproteinemias de la inanición o desnutrición (Distrofias).

3º Para estimular la síntesis de proteínas que desempeñan funciones específicas (hemoglobina, hormonas, enzimas, etc.), en los casos en que hay una evidente modificación de sus cifras.

4º En los estados de disminución de la formación de proteínas plasmáticas por el hígado, en los cuadros patológicos que afectan su parénquima (degeneración grasosa, cirrosis, hepatitis, etc.), o cuando se desea protegerlo de la acción de ciertas toxinas hepatotropas.

5º Para mantener un adecuado equilibrio entre el estado de nutrición y los procesos de crecimiento.

Estudiaremos someramente algunos aspectos de la acción de los aminoácidos, con especial referencia sobre las alteraciones más visibles que presenta al distrófico.

### I. *Aminoácidos y Proteínas Plasmáticas.*

El estado nutritivo de un individuo puede valorarse por la cifra de su proteinemia; los valores bajos denotan una ingestión proteica insuficiente, una mala asimilación o una pérdida acentuada. Asimismo, la proteinemia puede utilizarse como índice para determinar la magnitud de las necesidades proteicas, WEECH<sup>137</sup>. Por su parte WOLLSTEIN y GOETTSCH<sup>138</sup>, establecen que durante la carencia proteica los cambios de la fracción albúmina son mucho más acentuados que los de las fracciones de globulinas. DEL CARRIL y LARGUIA<sup>140</sup>, consideran que en Pediatría, para que tenga valor una cifra de proteínas plasmáticas se requiere que el niño esté en buen estado de hidratación, desde que, en los casos de desnutrición, se asocian frecuentemente alteraciones del metabolismo hídrico. Para ello recomiendan la determinación simultánea del hematocrito o del volumen sanguíneo.

En los casos de hipoproteinemia por déficit alimenticio, si no hay ninguna dificultad en la digestión o absorción, la administración de preparados de aminoácidos será capaz de compensar el déficit e ir aumentando paulatinamente las cifras de plasmoproteínas. Con el suministro de aminoácidos obtenidos por hidrólisis ácida, alcalina o enzimática de la caseína y otras proteínas similares, se logra tanto en la experimentación animal como en la clínica humana, una evidente regeneración de las sero-proteínas, principalmente de albúminas ELMAN<sup>141</sup>, MADDEN<sup>142</sup>, CLARK<sup>143</sup>, WHIPPLE y MADDEN<sup>144</sup>, WHITE<sup>145</sup>, etc.

Los aminoácidos además, son eficaces en la restauración de las hipoproteinemias que siguen a las hemorragias. LEVY<sup>146</sup>, ha comprobado que en dichos estados, las proteínas plasmáticas vuel-

ven a su primitivo valor hacia el 10º día de administración de aminoácidos, mientras en los grupos de control necesitan 19 días. Cox y MULLER<sup>147</sup>, experimentando en perros han llegado a demostrar que los hidrolizados de caseína, lacto-albúmina y proteínas séricas de bovino, administradas por vía oral o endovenosa, no difieren significativamente en su capacidad para regenerar las albúminas plasmáticas. Los hidrolizados de proteínas séricas de bovino, sin embargo, cuando se dieron por vía oral parecían duplicar el efecto conseguido por administración intravenosa, en la regeneración de las albúminas plasmáticas.

WEECH<sup>137</sup> y SACHAR, HORTWITZ y ELMAN<sup>148</sup>, han confirmado que la pérdida de 1 gramo de albúmina plasmática va acompañada de una pérdida de 30 gramos de otras proteínas tisulares y hemoglobínicas, y que, al contrario, la síntesis de 1 gramo de sero-albúmina va seguida de la formación de 30 gramos de proteínas tisulares.

Finalmente, CHOW<sup>149</sup>, y DE BIASSE<sup>150</sup>, han observado que la administración oral de aminoácidos incrementa las cifras de albúminas plasmáticas en los enfermos que mantienen en un nivel relativamente alto su proteinemia, mientras que dicho aumento no se produce en las fases terminales de las graves hipoproteinemias. Igualmente, si la baja de proteínas no es muy severa, el apropiado suministro de aminoácidos produce un aumento tanto de las albúminas como de las globulinas del plasma. Este efecto es muy importante por las posibles relaciones entre globulinas y ciertas funciones vitales como síntesis de hormonas y anticuerpos.

En la distrofia, el empleo de los aminoácidos encuentra un campo apropiado, desde que en este proceso existe una baja notable de plasmoproteínas totales, y albúminas y de hemoglobina. Además, el suministro de productos proteicos perfectamente absorbibles, como son los aminoácidos, permiten al niño distrófico un mejor aprovechamiento de todos aquellos materiales que requiere para la formación de sus proteínas tisulares.

## II. *Aminoácidos y Enfermedades Hepáticas.*

Hemos visto como las dietas exentas de proteínas ocasionan graves alteraciones en las funciones y estructura de la glándula hepática. <sup>19, 21, 49, 50, 51, 89, 90, 87</sup>, etc. lo que también puede apreciarse en la parte experimental de este trabajo. (Cap. III). Además, las dietas que contienen muy escasa cantidad de proteínas hacen más

sensible al hígado a la acción de las sustancias tóxicas<sup>95</sup>, SAHYUN<sup>151</sup>, y le imposibilitan —si las lesiones son muy graves— la correcta utilización de los aminoácidos y otras sustancias esenciales de la dieta.

Los hidrolizados de proteínas han sido empleados con éxito en el tratamiento de diversos procesos infecciosos y degenerativos del hígado. FAGIN y ZINN<sup>152</sup>, han usado aminoácidos obtenidos por hidrólisis ácida de la caseína en enfermos cirróticos, habiendo obtenido buenos resultados. Más tarde, FAGIN, SAHYUN y PAGEL<sup>153</sup>, comprobaron que la administración de aminoácidos por vía oral y endovenosa mejoraba los edemas y determinaba una pronta recuperación clínica y de las funciones hepáticas en los casos de cirrosis, atribuyendo las acciones específicas de estas sustancias, a su riqueza en metionina. Por su parte BENNETT<sup>154</sup>, afirma que los estudios terapéuticos más recientes consagran a las proteínas, aminoácidos y en especial a la metionina, como los elementos más valiosos en el control y tratamiento de la cirrosis hepática. LEWIS, TAYLOR y DAVIDSON<sup>155</sup>, han comparado los efectos de la administración endovenosa de aminoácidos en pacientes cirróticos y sujetos normales. Comprobaron que al inyectar rápidamente las soluciones ambos grupos presentaban intolerancia a la inyección, y que después de la administración lenta los cirróticos presentaban cuatro horas más tarde una aminocidemia elevada.

Los estudios de FLEMING y SNELL<sup>156</sup>, LEWIS, TAYLOR y DAVIDSON<sup>157</sup>, y otros, han demostrado que las dietas de alto contenido proteico tienen gran valor en el tratamiento de la cirrosis hepática, debido a su alto contenido en metionina. KAUFFMAN<sup>158</sup>, ha probado que esta acción protectora de las proteínas sobre el hígado depende fundamentalmente de su riqueza en metionina. De igual modo, MILLER y WHIPPLE, han estudiado que la metionina defiende a los animales de la intoxicación experimental con cloroformo y que esta acción protectora se manifiesta aún cuatro horas después de la anestesia.

Por último, los trabajos de WHEELER y GYORGY<sup>160</sup>, sobre la excreción de metionina en niños normales y con enfermedades hepáticas (hepatitis y cirrosis), han establecido que es bien utilizada por los pacientes con dichos procesos. Estos mismos autores recomiendan que en los niños pequeños o lactantes se emplee la metionina en soluciones acuosas de cristales puros de d-l metionina a la dosis de 1 a 2 gramos por día.

### III. *Aminoácidos e Inmunidad.*

Una importante función de los aminoácidos es la formación de anticuerpos. Se ha llegado a establecer que éstos son globulinas del plasma modificadas de una manera específica, habiéndose demostrado su naturaleza proteica, desde la introducción de métodos analíticos y cuantitativos de dosaje, por HEIDELBERGER y KENDALL<sup>161, 162</sup>; para su aislamiento en cantidades apreciables por FELTON<sup>163</sup> y <sup>161,162</sup>; y su estudio por electroforesis, ultracentrifugación y difusión por TYSELIUS<sup>163</sup>, KABAT<sup>164</sup>.

También se ha demostrado por el método de los isótopos que los anticuerpos en los animales activamente inmunizados, toman el nitrógeno de la dieta de la misma manera que las sero-globulinas, con una distribución similar del N15 entre los aminoácidos constituyentes. En cambio los anticuerpos inyectados en forma pasiva, aunque sean de la misma especie animal, no entran en un intercambio similar con el nitrógeno de la dieta, SCHOENHEIMER y colab.<sup>165</sup>. Los anticuerpos se comportan como verdaderas proteínas y muchos de ellos, al igual que las globulinas tienen un peso molecular de cerca de 150.000 y algunos se aproximan al tamaño de 1.000.000.<sup>161,162</sup>. CANNON<sup>166</sup>, por su parte ha demostrado que los animales hipoproteinélicos forman anticuerpos con más lentitud que los normales, y que la capacidad de los animales para protegerse contra las enfermedades mediante la producción de anticuerpos depende del aporte de aminoácidos para la síntesis de las proteínas.

### IV. *Acción específica de los Aminoácidos.*

Los diez aminoácidos esenciales derivados de los alimentos proveen al organismo de los núcleos y radicales indispensables para la síntesis de los tejidos corporales, hormonas y enzimas.

En efecto, algunas hormonas del organismo son proteínas. La que se ha caracterizado con más precisión es la insulina, pues no sólo se ha obtenido en forma cristalina, sino que se ha determinado que está constituida por diversos aminoácidos, cuyos porcentajes son los siguientes: leucina 30, tirosina 12.5, arginina 3, histidina 4, lisina 2, ácido glutámico 20, cistina 12.5, serina 3.6, treonina 2.7, prolina 10 y fenilalanina 1, por SAHYUN<sup>167, 168</sup>. La hormona de la glándula paratiroides, parahormona, parece ser de naturaleza proteica. Los estudios de la absorción de luz ultravioleta han demostrado la presencia de tirosina, fenilalanina y triptofano, Ross y

WOOD<sup>169</sup>. Las hormonas del lóbulo anterior de la hipófisis, parecen ser todas proteínas. La hormona adrenocorticotropa, es una proteína con un peso molecular de 20.000, LI, EVANS y SIMPSON<sup>170</sup>. La prolactina, está constituida fundamentalmente por cistina, la que representa casi el 45% de su peso, y contiene además tirosina y triptofano, WHITE y colab.<sup>171</sup>.

La hormona del crecimiento, según LI y EVANS<sup>172</sup>, es una proteína pura. La tiroglobulina, hormona de la glándula tiroides, está constituida por una molécula de tirosina, de la cual depende su actividad. Se ha aislado también de esta hormona los siguientes aminoácidos: cistina, metionina y triptofano.

Las enzimas tales como la pepsina, el pepsinógeno, el quimotripsinógeno, la quimotripsina, el tripsinógeno, la tripsina, las diversas peptidasas, la ureasa, catalasa, papaína, amilasa, lipasa, maltasa, etc., son de naturaleza proteica y en su estructura intervienen diversos aminoácidos.<sup>167, 168</sup>.

Aquellos sistemas enzimáticos que participan en los mecanismos de óxido reducción, como la coenzina 1, la coenzina 2 y el fermento amarillo, las cuales contienen una vitamina en su núcleo prostético, son esencialmente nucleoproteínas, y su síntesis se efectúa a partir de los aminoácidos. El glutathion, catalítico de las oxidaciones tisulares, contiene tres aminoácidos: ácido glutámico, cisteína y glicocola, HOPKINS<sup>173</sup>.

Finalmente, algunos aminoácidos individualmente tienen acciones específicas. La metionina, como hemos visto es indispensable para la movilización de los fosfolípidos y el funcionamiento hepático. El triptofano, es el origen de los núcleos indol y pirrol, indispensables para la síntesis de la hemoglobina y el normal funcionamiento de las glándulas sexuales: ALBANESE, HOLT, KADJI y FRANKSTON<sup>174</sup>, ALBANESE y FRANKSTON<sup>175</sup>, ALBANESE y BUSCHKE<sup>176</sup>.

La histidina proporciona el núcleo iminazol, necesario para el funcionamiento de la glándula pituitaria, SCHOENHEIMER y colab.<sup>177</sup>; por descarboxilación puede producir histamina, de gran trascendencia para las reacciones vasomotoras (tono capilar), DALE<sup>178</sup>, ROSE y COX<sup>179</sup> y porque sería además transmisor químico de las sensaciones dolorosas y estimulante de la secreción gástrica. MARSHALL<sup>180</sup>, GOODMAN y BEARG<sup>181</sup>.

El ácido glutámico es el único capaz de mantener la respiración de cortes de cerebro; neutraliza el amoníaco y las aminas tóxicas, NACHMANSONH y colab.<sup>182</sup> VAN SLYKE y colab.<sup>183</sup>.

*En resumen:* Las proteínas, en condiciones normales, sólo son utilizadas por el organismo luego de su digestión, durante cuyo proceso las grandes moléculas proteicas son desintegradas en sus fracciones constitutivas: los aminoácidos aislados y pequeñas combinaciones de los mismos, habitualmente denominadas péptidos. Luego de absorbidos a nivel del intestino, son transportados por el torrente sanguíneo a todos los tejidos y órganos para ser transformados en proteínas tisulares, proteínas plasmáticas, hormonas, enzimas, anticuerpos, etc. cada una de las cuales tiene su propia composición de aminoácidos. La nutrición proteica normal sólo puede mantenerse por la asimilación de una mezcla apropiada de aminoácidos, ya sea proveniente de las proteínas de los alimentos o de hidrolizados de proteínas suministrados por vía oral o endovenosa.

Algunos aminoácidos aisladamente tienen funciones específicas interviniendo en el funcionamiento de diversos órganos que cumplen rol de gran importancia: hígado, cerebro, glándulas de secreción interna, etc.

Debe destacarse que los hidrolizados de proteínas no poseen las propiedades fisiológicas de las grandes moléculas proteicas. Solamente pueden servir como fuente para la producción de proteínas tisulares o para los requerimientos de nutrición de los tejidos. En consecuencia, las mezclas de aminoácidos no pueden clasificarse como sustitutos de la transfusión de sangre o plasma, sino solamente como sustitutos para la reedificación de las proteínas orgánicas, las que normalmente se originan a partir de los alimentos que llegan por vía gastro-intestinal. Los preparados de aminoácidos, en la práctica clínica, se han mostrado eficaces en el tratamiento de diversos procesos en que el desgaste proteico es exagerado, la digestión proteica mínima o nula y la síntesis de proteínas plasmáticas insuficiente.

*Cloruro de Colina:* Hemos revisado en un capítulo anterior el rol de la colina en el metabolismo de las grasas y sus relaciones con el depósito de lípidos en el hígado. Resumiremos brevemente algunas de sus propiedades. La colina es una vitamina que interviene en la síntesis de los fosfolípidos, y es constituyente de la lecitina y esfingomielinina, que juegan probablemente un papel en la movilización de las grasas del organismo. Por contener tres radicales metilo ( $\text{CH}_3$ ), en su molécula es considerada como factor principal de las metilaciones orgánicas. Por lo mismo, interviene en la síntesis de la creatina, creatinina, adrenalina, acetil-

colina, sarcosina y metionina, así como en ciertas reacciones auto-desintoxicantes. Su administración ha dado buenos resultados en enfermos cirróticos, observándose notable mejoría de los síntomas clínicos y de las lesiones hepáticas. En *Pediatría*, GILLMAN Y GILLMAN y MENGHELLO<sup>14</sup>, la han empleado con éxito en el tratamiento de niños pelagrosos y distróficos policarenciales, contribuyendo de modo notable a disminuir la esteatosis hepática presente en tales casos.

## CAPITULO QUINTO

### ESTUDIO CLINICO

#### I. *Material de trabajo y Métodos de estudio.*

A) *Material de trabajo:* El presente trabajo corresponde al estudio de treinta niños distróficos policarenciales, del Pabellón I del Hospital del Niño, a quienes hemos tenido oportunidad de seguir sistemáticamente, y someter a tratamiento especial con *Aminoácidos* y *Cloruro de Colina* durante su permanencia en el Servicio.

Este grupo de distróficos fué seleccionado entre aquellos que habían estado hospitalizados más de 1 mes y mostraban una curva ponderal estacionaria, pese a que recibían dietas adecuadas y balanceadas a su edad y estado nutritivo.

Antes de la institución del tratamiento con *Aminoácidos* y *Colina*, cada niño fué cuidadosamente examinado, comprobándose mediante examen flourescópico del tórax, reacción de Mantoux y reacciones serológicas que no presentaba procesos infecciosos específicos (tuberculosis y lúes), que pudieran entorpecer los resultados del tratamiento.

Los niños fueron catalogados de acuerdo al déficit ponderal que tenían al iniciarse el tratamiento, utilizando para ello la Tabla de Peso Nacional, anexa a la Historia Clínica Hospitalaria, y haciendo los cálculos a base de la edad.

En cada enfermito se realizaron cuatro controles. El primero al empezarse el tratamiento (*valoración del estado nutritivo*); el segundo a los 20 días, el tercero a los 40, y el cuarto a los 60 días, a fin de observar la respuesta de los exámenes, determinaciones

y pruebas empleadas en su estudio, a la administración de Aminoácidos y Colina, y poder, en esa forma, apreciar mejor la evolución seguida por el niño. En cinco casos no se pudieron realizar los cuatro controles debido a alta intempestiva a exigencia de los familiares. No se registró ningún caso de muerte en el curso del tratamiento.

La edad de los niños fluctuó entre 2 meses y 1 año y 8 meses. (Cuadro N° 6).

B) *Métodos de estudio*: Comprende:

1º *Valoración del estado nutritivo*: Mediante las siguientes determinaciones y exámenes:

a) *Déficit ponderal*: Calculado a base del peso ideal para su edad y estableciendo su relación con el peso actual.

b) Dosaje de proteínas totales, albúmina y globulina plasmáticas<sup>118</sup>.

c) Dosaje de hemoglobina<sup>119</sup>.

d) Determinación del hematocrito.

2º *Valoración del estado hepático*: Mediante las siguientes pruebas hepáticas de floculación:

a) Cefalina colesterol<sup>120</sup>, utilizando el antígeno preparado por los Laboratorios Difco.

b) Timol<sup>121</sup>, con reactivo preparado por el método propuesto por MACLAGAN<sup>184</sup>.

c) Oro coloidal<sup>122</sup>, y utilizando para la prueba un solo tubo.

Las lecturas se efectuaron a las 24 horas. Las anotaciones de positividad estuvieron ajustadas a las normas dadas por los autores antes mencionados, para cada una de las pruebas.

La sangre fué extraída por punción venosa yugular, estando el niño en ayunas. Los análisis se realizaron entre 1 hora y 3 horas después de extraída la sangre en el Laboratorio de la Cátedra de *Pediatría*, anexo al Pabellón N° 1.

Todos los exámenes se realizaron en cuatro oportunidades en cada enfermo, en las fechas señaladas anteriormente.

3º *Tratamiento*: Ha consistido en la administración de *Aminoácidos* y *Cloruro de Colina* \*.

\* Agradecemos al Instituto Sanitas, el habernos proporcionado sus preparados de Hidroamin en polvo e inyectable y Lipocol.

a) *Aminoácidos*: Hemos utilizado, un preparado de aminoácidos obtenidos por hidrólisis enzimática de la caseína y que contiene: arginina, cistina, metionina, isoleucina, leucina, lisina, histidina, fenilalanina, triptófano y valina.

En mayor escala empleamos la forma en polvo de aminoácidos puros, con una riqueza de 95%, por ser más fácil la administración a los lactantes disuelto en sus biberones. En algunas oportunidades usamos la forma de jalea, al 50% de hidrolizado enzimático de caseína y el preparado inyectable (solución de aminoácidos y glucosa al 5%), y la suministramos por vía oral, en concentraciones elevadas o gota a gota, mediante sonda nasal. En un caso empleamos la vía subcutánea para inyectar 250 cc. de esta solución adicionada de 1 ampolla de hialuronidasa.

*Administración oral*: En casi todos los casos estudiados administramos aminoácidos en polvo o en jalea, a razón de 2.5 gramos por kilo de peso corporal medio, al día ( $\frac{1}{2}$  peso ideal + peso actual), disuelto en sus biberones y repartido en 3 y 4 tomas al día. En algunos niños efectuamos la administración por sonda, dada la facilidad del sondaje gástrico en el lactante, cuando había repugnancia a la ingestión del medicamento. Para ésto utilizábamos una pequeña sonda de Nélaton N° 8, y disolvíamos el preparado en polvo en poca cantidad de líquido, inyectándolo inmediatamente con una jeringa de 20 cc. Otras veces hicimos la administración por sonda de la forma inyectable, gota a gota, a razón de 25 a 30 gotas por minuto, de 250 cc. del preparado (aminoácidos y glucosa al 5%).

En tres casos hubo intolerancia a los preparados de aminoácidos tanto en polvo (aminoácidos puros), como en solución al 5%, presentando los niños fiebre, vómitos, deposiciones líquidas, irritabilidad, anorexia y decaimiento del estado general, obligando a suspender el medicamento. La administración repetida de los mismos preparados de aminoácidos, desencadenó nuevamente el cuadro anteriormente descrito. Conceptuamos ésto como verdaderos casos de intolerancia a los hidrolizados de proteínas, semejantes a los descritos por otros autores: GLUCK y WILSON<sup>185</sup>, GOTTFIED y colab.<sup>186</sup>.

*Administración inyectable*: Sólo hemos empleado la inyección por vía subcutánea en 1 caso, mediante la adición de 1 cc. de Hyalase a una ampolla de 250 cc. de la solución de aminoácidos

glucosa al 5%. La tolerancia fué buena, tanto en los resultados obtenidos en la hidratación como en el estado general del paciente.

*Cloruro de Colina:* Empleamos un jarabe de colina 20% y la sal pura de colina.

La dosificación la efectuamos a razón de 0.25 gramos de Colina por Kg. de peso medio, tanto en la forma de jarabe como de la sal pura. En el primer caso la administración se realizó en tomas dos a tres veces al día, en cucharadas, generalmente antes de los biberones. La sal era disuelta en una pequeña porción del biberón o de agua, y se suministraba ya por cucharaditas o por sonda gástrica, utilizando la misma de la administración de aminoácidos. La tolerancia al medicamento fué buena en todos los casos.

c) *Vitaminas:* Todos los niños recibieron dosis adecuadas de vitaminas A, complejo B, C y D, de acuerdo a sus requerimientos y los trastornos carenciales más visibles, que hacían pensar en la falta de algunos de estos principios.

d) *Dieta:* Los enfermitos recibieron los regímenes dietéticos indicados a su estado nutritivo. Generalmente se inició el tratamiento dietético con leches albumosas, en los niños pequeños, y con leche de vaca ácida en los mayorcitos. La progresión alimenticia estuvo regida por el progreso y tolerancia digestiva de cada enfermito.

## II. Resultados

*Valoración del estado nutritivo:* Ya hemos señalado que comprende el estudio del déficit ponderal (Cuadro N° 6), y la determinación de las plasmoproteínas totales, albúminas y globulinas, hemoglobina circulante y hematocrito, en cada niño. Todos los exámenes se hicieron con el propósito de conocer sus valores iniciales antes del tratamiento, y luego para establecer sus relaciones con el estado nutritivo del niño, así como con el estado funcional del hígado.

Los resultados de los controles iniciales, para cada uno de los exámenes se consignan en el Cuadro N° 7.

## DÉFICIT PONDERAL DE LOS NIÑOS ESTUDIADOS

(Índices obtenidos en comparación con los pesos de niños normales)

## Tabla de Peso Nacional

## VARIACIONES DEL PESO EN LACTANTES DISTRÓFICOS SOMETIDOS A TRATAMIENTO CON AMINOÁCIDOS Y COLINA

Observación	Nombre	Antes del Tratamiento			Durante el Tratamiento					
		Edad	Peso grs.	Déf. Pond. %	Hosp.	Edad	I Control inicio	II Control 20 días	III Control 40 días	IV Control 60 días
N° 1	N.P.	7m.21d.	5.250	-30	5m.	1α.18d.	6.250	6.500	7.300	8.200
N° 2	F.R.	8m.23d.	6.200	-28	5m.	1α.22d.	6.100	7.050	7.850	8.400
N° 3	J.S.R.	1α.7m.	5.200	-53	15d.	1α.8m.	5.400	6.250	7.400	8.200
N° 4	L.V.	1α.2m.	5.900	-45	1m.	1α.3m.	5.500	5.900	6.200	6.950
N° 5	I.S.	5m.15d.	5.200	-25	3m.½	9m.	4.750	5.300	6.100	6.800
N° 6	V.V.	2m.15d.	2.700	-40	2m.½	5m.	2.750	3.200	3.600	4.500
N° 7	A.S.	2m.10d.	2.550	-40	2m.5d.	4m.½	2.850	3.150	3.500	4.100
N° 8	R.N.	3m.	4.150	-33	1m.½	4m.½	4.500	5.000	5.300	5.950
N° 9	R.A.	9m.	4.900	-45	1m.	10m.	5.200	5.700	5.950	6.300
N° 10	A.P.	6m.15d.	4.450	-40	1m.½	8m.	4.680	4.600	—	—
N° 11	A.M.	4.900	4.900	-45	1m.5d.	10m.	5.350	5.800	6.350	6.800
N° 12	O.V.	5m.	4.800	-34	1m.10d.	6m.	5.100	5.450	5.800	6.250
N° 13	R.A.	8m.	4.150	-50	1m.8d.	9m.	4.300	4.780	5.250	5.600
N° 14	J.R.	1m.½	3.000	-25	2m.8d.	3m.½	3.450	3.880	4.200	4.550
N° 15	V.V.	1α.	4.580	-50	15d.	1α.15d.	4.600	4.850	5.200	5.650
N° 16	R.A.R.	1α.8m.	5.500	-49	1m.	1α.9m.	5.350	5.900	6.500	7.200
N° 17	E.C.	1α.6m.	8.050	-20	1m.15d.	1α.8m.½	7.350	7.800	8.300	8.900
N° 18	A.T.	8m.	3.750	-55	1m.	9m.	3.850	4.500	4.950	5.600
N° 19	C.P.	1α.	5.900	-34	1m.	1α.1m.	5.880	6.600	7.100	7.550
N° 20	J.C.	6m.	3.950	-50	15d.	6m.15d.	3.800	4.300	4.750	5.280
N° 21	C.A.	9m.	5.100	-42	1m.20d.	• 10m.20d.	4.950	5.400	5.750	6.050
N° 22	L.H.	2m.20d.	2.800	-45	1m.	3m.20d.	3.200	3.750	4.200	4.600
N° 23	T.C.	1α.	4.750	-45	15d.	1α.15d.	4.500	4.800	5.500	5.850
N° 24	G.P.	1m.	3.200	-20	1m.	2m	3.200	3.600	3.900	4.350
N° 25	R.C.	8m.	5.100	-33	18d.	8m.18d.	5.150	5.450	5.950	—
N° 26	P.R.	6m.	4.350	-30	1m.	7m.	4.500	4.950	5.300	5.850
N° 27	N.M.	5m.	4.400	-35	1m.10d.	6m.10d.	4.650	5.000	5.480	—
N° 28	O.S.	4m.20d.	4.250	-30	1m.8d.	6m.	4.500	4.780	5.200	—
N° 29	N.S.	3m.10d.	3.950	-30	1m.6d.	4m.½	4.200	4.550	—	—
N° 30	C.L.	5m.12d.	4.300	-35	1m.8d.	7m.20d.	4.450	4.700	—	—

## CUADRO N° 7

CIFRAS DE PLASMOPROTEÍNA, HEMOGLOBINA Y HEMATOCRITO EN DISTRÓFICOS  
POLICARENCIALES ANTES DEL TRATAMIENTO

(Control efectuado en 30 Niños)

Determinación	Media $\pm$ E.S.	Desv. Stand. $\pm$ E.S.	Coef. Var. %	Valores extremos
Proteínas totales grs. x 100 cc.	5.45 $\pm$ 0.08	0.48 $\pm$ 0.06	8.8%	4.31 — 7.15
Albúmina grs. x 100 cc.	2.59 $\pm$ 0.07	0.39 $\pm$ 0.05	16.2%	2.03 — 4.07
Globulinas grs. x 100 cc.	2.84 $\pm$ 0.06	0.04 $\pm$ 0.52	11.2%	2.24 — 4.71
Razón A/G				
Hemoglobina grs. x 100 cc. *	9.13 $\pm$ 0.74	0.34 $\pm$ 0.04	44.2%	6.25 — 15.93
Hematocrito mm. x 100 cc.	32.0 $\pm$ 1.35	7.30 $\pm$ 0.94	24.3%	17.0 — 56.0

Analizando la cifras del cuadro anterior podemos deducir lo siguiente:

1º *Proteínas*: La cifra de proteínas totales está por debajo de los límites normales. La media ha sido de 5.45 grs.%, con E. S. de  $\pm$  0.08, y valores extremos de 4.31 y 7.15 gramos %. Los valores medios de niños normales obtenidos entre nosotros son de 5.63 grs.%, con E. S.  $\pm$  0.09 y valores extremos de 5.11 y 6.20 grs.% 98. Esto indicaría que en el distrófico existen variaciones individuales notables de concentración de plasmoproteínas. Pero si relacionamos estas cifras con las encontradas para el hematocrito, veremos que mientras en unos casos hay un evidente cuadro de hemoconcentración, con alza relativa de las plasmoproteínas, en otros existe una gran baja de los constituyentes sanguíneos. En efecto, hemos encontrado en el mismo grupo de niños, que los valores del hematocrito fueron de lo más diversos: la cifra media fué de 32 mm.%, con E. S.  $\pm$  1.35 y cifras ex-

tremas de 17 y 56 mm.%. En consecuencia, la baja de las plasmaproteínas en los niños distróficos, es evidentemente acentuada.

Es indudable que las determinaciones aisladas de estos elementos pueden inducir a una interpretación errónea. Así, tanto la proteinemia como el hematocrito dependen además del grado de hidratación, de las cifras previas de proteínas y de los elementos figurados de la sangre. Las alteraciones en el volumen sanguíneo, así como la existencia de un cuadro de anemia, modificarían notablemente los resultados.

La frecuencia de hipoproteinemia en los estados de desnutrición aumenta aún más el porcentaje de error y de datos falsos con una sola determinación. Sin embargo, en el distrófico también se encuentran alteraciones hematológicas que influyen en la cifra del hematocrito. El estudio combinado y simultáneo en la misma muestra de sangre, de ambos exámenes, permiten establecer un control recíproco de los resultados.

Esta forma de análisis facilita distinguir cuándo una baja de proteínas plasmáticas es primaria por déficit en la proteinogénesis o consecutiva a la extravasación de plasma por alteración de la permeabilidad de la membrana capilar. En los casos de hemoconcentración sin hiperproteinemia, el hallazgo de una cifra alta de hematocrito es decisivo para el diagnóstico de daño capilar<sup>140</sup>.

En los estados graves de desnutrición es preciso tener en cuenta la posible alteración en la calidad de las proteínas plasmáticas y la consiguiente repercusión en su valor funcional. Es frecuente observar durante la evolución de estos procesos descenso en su concentración, determinada por varios factores: desintegración proteica, perturbaciones en el proceso normal de la proteinogénesis, aporte insuficiente de aminoácidos y repercusión sobre el metabolismo proteico del estado funcional del hígado, así como alteraciones en la calidad y cantidad de las diversas fracciones proteicas, albúminas y globulinas<sup>140, 141, 143</sup>.

Nosotros hemos encontrado para la albúmina plasmática una cifra media de 2.59 grs.%, con E.S.  $\pm$  0.07 y valores extremos de 2.03 y 4.07 grs.% en contraste con los niveles dados para niños normales<sup>98</sup>, de 3.78 grs.%, de promedio, con E. S.  $\pm$  0.07 y cifras extremas de 3.35 y 4.14 grs.% Esto denotaría que en el distrófico existe una apreciable disminución de la sero-albúmina, es decir una hipoalbuminemia. En cambio, para las fracciones

globulínicas hallamos como cifra media 2.84 grs%, con E.S.  $\pm 0.06$  y valores extremos de 2.24 y 4.71 grs.%, superiores a los encontrados en niños normales de 1.84 grs.% de cifra media con E.S.  $\pm 0.05$  y variaciones de 1.56 y 2.00 grs.% 98. El distrófico, en consecuencia, mostraría un considerable aumento de sus cifras de globulinas, con variaciones muchísimo más altas que la de los niños normales. Hay, pues, una evidente hiperglobulinemia.

Por el menor peso de su molécula las albúminas ejercen mayor presión coloidosmótica que las globulinas, y al mismo tiempo por su menor tamaño atraviesan más fácilmente las membranas vasculares apenas se inicia el daño capilar. Por tanto, su concentración disminuye en mayor proporción y es corriente observar la alteración de la relación serina-globulina<sup>140, 143, 144, 145</sup>.

La razón serina-globulina, en los casos estudiados ha estado francamente disminuida y en muchos casos ha sido inferior a la unidad. El valor medio encontrado es de 0.93 con E.S.  $\pm 0.05$  y valores extremos de 0.56 y 2.38, denotando un gran predominio de la fracción globulínica del plasma. Los valores medios normales señalados por otros autores son de 2.04 con E.S.  $\pm 0.05$  y variaciones de 1.84 y 2.65<sup>98</sup>.

Es importante señalar que los diversos trabajos experimentales han demostrado que en los casos de déficit proteico, las proteínas plasmáticas disminuyen fundamentalmente a base de las albúminas permaneciendo en niveles altos las globulinas<sup>91, 138</sup>. Además, se ha comprobado mediante electroforesis<sup>112, 113</sup>, que cuando existen trastornos anatómicos difusos del parénquima hepático, se producen modificaciones cuantí y cualitativas de las proteínas plasmáticas, disminuyendo las serinas y aumentando las globulinas, fenómeno que se debería a que el hígado forma con más facilidad globulinas que albúminas por ser proteínas de mayor peso molecular.

2º *Hemoglobina*: Los valores medios encontrados en los lactantes distróficos son: 9.13 grs.%, con un E. S. de  $\pm 0.74$  y cifras extremas de 0.25 y 15.93 grs.%. Lo real es que en el distrófico existe una apreciable disminución de la cifra de hemoglobina circulante, aunque en algunos casos, hay una alza relativa, concomitante con un proceso de hemoconcentración. La determinación simultánea del hematocrito, permite establecer esta confirmación.

En los casos de desnutrición es manifiesta la pérdida de hemoglobina sea por la falta de aporte de materiales proteicos para su síntesis o por la carencia de otros principios esenciales que activan su formación (vitaminas del Complejo B, Acido Ascórbico, etc.) Nosotros hemos comprobado en la parte experimental, que la cifra de hemoglobina disminuye cuando el aporte de sustancias nitrogenadas es insuficiente y al contrario, se incrementan ligeramente, aún en animales normales, cuando se les adiciona en la dieta una buena proporción de aminoácidos. Los mismos resultados han sido obtenidos anteriormente por diversos autores<sup>87, 91</sup>. Igualmente, se ha informado que el apropiado suministro de aminoácidos favorece la síntesis de hemoglobina en los casos de hemorragias<sup>146</sup>. En el distrófico se asocia además la baja de plasmoproteínas, guardando sus cifras un estrecho paralelismo.

Es probable que las lesiones hepáticas influyan también en esta reducción de la hemoglobina circulante, desde que es el órgano fundamental para el metabolismo proteico.

Entre nosotros, anteriormente se han estudiado los valores hematológicos de los distróficos<sup>101</sup>, habiéndose obtenido iguales resultados.

*Variaciones de las cifras de plasmoproteínas, hemoglobina y hematocrito en el curso del tratamiento con aminoácidos y cloruro de colina:*

En los Cuadros 8, 9 y 10, están expresadas las cifras medias y los coeficientes de variación de las plasmoproteínas (proteínas totales, albúmina y globulinas y razón A/G), hemoglobina y hematocrito en el grupo de distróficos que recibieron como tratamiento aminoácidos y cloruro de colina.

CUADRO N° 8

CIFRAS DE PLASMOPROTEÍNAS, HEMOGLOBINA Y HEMATOCRITO EN DISTRÓFICOS POLICARENCIALES DURANTE EL TRATAMIENTO CON AMINOÁCIDOS Y CLORURO DE COLINA  
Control a los 20 días  
(Treinta Casos)

Determinación	Media $\pm$ E.S.	Desv. Stand. $\pm$ E.S.	Coef. Var. %	Valores extremos
Proteínas totales grs. x 100 cc.	5.55 $\pm$ 0.05	0.30 $\pm$ 0.04	5.	4.70 — 6.78
Albúmina grs. x 100 cc.	2.89 $\pm$ 0.08	0.42 $\pm$ 0.05	14.7	2.20 — 3.84
Globulinas grs. x 100 cc.	2.63 $\pm$ 0.05	0.25 $\pm$ 0.03	9.4	2.20 — 3.15
Razón A/G	1.18 $\pm$ 0.04	0.24 $\pm$ 0.03	20.3	0.72 — 1.96
Hemoglobina grs. x 100 cc.	9.75 $\pm$ 0.17	0.92 $\pm$ 0.12	9.4	8.06 — 12.2
Hematocrito mm. x 100 cc.	32.6 $\pm$ 1.0	5.4 $\pm$ 0.70	13.4	25 — 47

CUADRO N° 9

Control a los 40 días  
(Veintiocho Casos)

Determinación	Media $\pm$ E.S.	Desv. Stand. $\pm$ E.S.	Coef. Var. %	Valores extremos
Proteínas totales grs. x 100 cc.	5.76 $\pm$ 0.05	0.30 $\pm$ 0.04	5.	5.12 — 6.52
Albúmina grs. x 100 cc.	3.10 $\pm$ 0.05	0.25 $\pm$ 0.03	8.1	2.48 — 3.65
Globulinas grs. x 100 cc.	2.64 $\pm$ 0.04	0.24 $\pm$ 0.03	9.1	2.25 — 3.60
Razón A/G	1.17 $\pm$ 0.05	0.22 $\pm$ 0.04	18.7	1.09 — 1.98
Hemoglobina grs. x 100 cc.	10.45 $\pm$ 0.15	0.83 $\pm$ 0.10	7.9	8.28 — 12.25
Hematocrito mm. x 100 cc.	37.15 $\pm$ 0.83	4.50 $\pm$ 0.58	12.1	28 — 42

CUADRO N° 10

Control a los 60 días  
(Veinticinco Casos)

Determinación	Media $\pm$ E.S.	Desv. Stand. $\pm$ E.S.	Coef. Var. %	Valores extremos
Proteínas totales grs. x 100 cc.	5.98 $\pm$ 0.05	0.26 $\pm$ 0.03	4.39	5.29 — 6.48
Albúmina grs. x 100 cc.	3.37 $\pm$ 0.06	0.32 $\pm$ 0.04	9.5	2.73 — 4.00
Globulinas grs. x 100 cc.	2.62 $\pm$ 0.06	0.31 $\pm$ 0.04	11.8	2.10 — 3.05
Razón A/G	1.65 $\pm$ 0.05	0.26 $\pm$ 0.03	15.8	1.21 — 1.98
Hemoglobina grs. x 100 cc.	11.23 $\pm$ 0.13	1.00 $\pm$ 0.13	8.8	9.25 — 12.69
Hematocrito mm. x 100 cc.	40.0 $\pm$ 0.51	2.75 $\pm$ 0.35	6.9	34 — 43

Como se puede apreciar por los datos consignados en los cuadros anteriores, los resultados del tratamiento con aminoácidos y cloruro de colina, en los lactantes distróficos ha sido favorable para la regeneración de las plasmoproteínas y hemoglobina y mejorar las cifras del hematocrito. Así tenemos:

A) *Proteínas:* Las plasmoproteínas totales han sufrido un ligero incremento, de 5.45 grs.%, en el control inicial, a 5.55 — 5.76 y 5.98 grs.%, respectivamente, en el segundo, tercero y cuarto control. Es decir, que alcanzaron un aumento de 9.72%. Pero donde es más apreciable los cambios, es en la fracción albúmina, que de una cifra inicial de 2.59 grs.%, aumentó a 2.89, 3.10 y 3.37 grs.% en los controles sucesivos a los 20, 40 y 60 días, alcanzando en total una alza del 20.1%. En cambio las globulinas disminuyeron muy ligeramente de 2.84 grs.% en el primer control 2.63, 2.64 y 2.62 grs.%, a los 20, 40 y 60 días, respectivamente. Esto demostraría que mientras las serinas han sido las determinantes del aumento de la proteinemia total, las globulinas se han mantenido en niveles más o menos similares.

Si bien es cierto que aparentemente las cifras de plasmoproteínas totales, albúminas y globulinas han experimentado ligeras variaciones, comparando los coeficientes de variación vemos que los cambios han sido amplios y extraordinarios: por ejemplo, el coef. var. %, de las proteínas totales en el control inicial fué de 8.8, 5.42, 5.20 y 4.39%, en los controles sucesivos. El coef. de var. de las albúminas fué de 16.2 en el primer control, y disminuyó a 14.7, 8.1 y 9.5%; en cambio, el coef. de var. de las globulinas de 11.2 al inicio, varió a 9.4, 9.1 y 11.8%, en los exámenes posteriores. Así mismo, las variaciones extremas de las cifras de plasmoproteínas totales, albúminas y globulinas, fueron cada vez menores, y en el control efectuado a los 60 días, oscilaban entre límites normales.

Además, si estas cifras las relacionamos con los valores del hematocrito, comprobaremos que mientras en el primer control, antes del tratamiento, eran de 32 mm. % como promedio, en los posteriores fueron de 32.6, 37.5 y 40.0 mm. %, respectivamente. Con variaciones extremas de 25-47, 28-42 y 34-43 mm. %, en contraste con 17-56 mm. %, de la primera determinación.

B) *Hemoglobina*: Igualmente las cifras de hemoglobina durante el tratamiento con aminoácidos y colina, sufrieron un apreciable incremento. Así, mientras antes del tratamiento la Hb. tenía como cifra media 9.13 grs. %, en las determinaciones realizadas a los 20, 40 y 60 días, eran de 9.75, 10.45 y 11.23 grs. %, respectivamente, con coeficiente de variación de 44.2% al inicio, y 9.4, 7.9 y 8.8%, en exámenes posteriores.

*En resumen*: El suministro de *Aminoácidos y Cloruro de Colina*, a distróficos policarenciales que permanecían con una curva de peso estacionaria y presentaban notable baja de las cifras de plasmoproteínas, hemoglobina y hematocrito, ha permitido obtener una mejoría apreciable en los valores de estos elementos, haciéndolos volver, en un lapso relativamente corto, a sus niveles normales.

Nosotros interpretamos este efecto favorable de los aminoácidos y del cloruro de colina, en el sentido de que mejoran las lesiones hepáticas existentes en el distrófico<sup>9, 11, 14, 15, 114, 115</sup>, etc., y por consiguiente, le devuelven su actividad funcional e intervención en el metabolismo proteico y en la formación de plasmoproteínas y hemoglobina, además de suministrar los materiales indispensables para que se lleve a cabo su síntesis.

II. *Comportamiento de las pruebas hepáticas de floculación en distróficos policarentales antes y durante el tratamiento con aminoácidos y cloruro de colina:*

Las pruebas hepáticas de floculación corresponden a: cefalina-colesterol, timol y oro coloidal, y se efectuaron igualmente en cuatro oportunidades: antes del tratamiento, a los 20, 40 y 60 días del suministro de aminoácidos y cloruro de colina, a los mismos enfermos en quienes se realizaron los exámenes y determinaciones anteriormente señalados.

1º *Cefalina-colesterol:* Los resultados obtenidos en los cuatro controles realizados antes y durante el tratamiento de los distróficos, se expresan en el Cuadro N° 11.

CUADRO N° 11

## REACCIÓN DE CEFALINA-COLESTEROL EN DISTRÓFICOS

*Resultados obtenidos antes y durante el tratamiento con aminoácidos y cloruro de colina*

Control	Intensidad de la reacción	Número de casos	Porcentaje de casos	Porcentaje positivos*
Antes del tratamiento (30 Casos)	0	2	6.6	93.4 %
	1 +	0	0.0	
	2 +	7	23.3	
	3 +	19	63.3	
	4 +	2	6.6	
A los 20 días (30 Casos)	0	2	6.6	93.4 %
	1 +	8	26.6	
	3 +	17	56.6	
	3 +	3	10.0	
	4 +	0	0.0	
A los 40 días (29 Casos)	0	12	42.8	57.15%
	1 +	8	28.6	
	2 +	5	17.8	
	3 +	3	10.8	
	4 +	0	0.0	
A los 60 días (25 Casos)	0	15	60.0	40.0 %
	1 +	5	20.0	
	2 +	4	16.0	
	2 +	1	4.0	
	4 +	0	0.0	

\* Se incluyen los porcentajes correspondientes a las reacciones de 1 +.

Como puede apreciarse, de 30 casos de distróficos que habían estado hospitalizado más de 1 mes, antes del tratamiento con aminoácidos y cloruro de colina, los resultados fueron positivos en el 93.4%, predominando las reacciones de 3 y 2 +, de intensidad, correspondientes al 63.3 y 23.3%, de los casos, respectivamente. Estos hallazgos están de acuerdo con los obtenidos anteriormente por otros autores en la misma clase de enfermos<sup>12, 13</sup>.

En el segundo control, a los 20 días, si bien el porcentaje de positividad ha permanecido en la misma cifra de 93.4%, se han presentado, en cambio, apreciables modificaciones en la intensidad de las reacciones. En efecto, en este momento hubo mayor número de respuestas positivas de intensidad 2 +, con un promedio de 56.6 por ciento, y 26.6%, de respuestas de intensidad 1 +; disminuyendo notablemente las de 3 +, que sólo se registraron en el 10% de los casos.

En el tercer control, a los 40 días, es más manifiesta aún la acción favorable de los aminoácidos y cloruro de colina sobre la positividad de la reacción de cefalina-colesterol. Así, la positividad disminuyó al 57.15%, predominando las respuestas de 1 + y 2 +, con porcentajes equivalentes al 28.6 y 17.8, respectivamente. Las respuestas de intensidad 3 +, permanecieron en la misma cifra que en el control anterior.

En el cuarto control, a los 60 días, el número de casos positivos llegó únicamente al 40%. La intensidad de floculación de las reacciones disminuyó también a las de 1 +, que se presentaron en el 20.0% de los casos. Las respuestas de 2 +, fueron solamente en el 16.0% y hubo sólo 1 caso de intensidad de 3 +.

Estos resultados demostrarían que el suministro de aminoácidos y cloruro de colina, contribuye a disminuir las respuestas positivas y la intensidad de floculación de cefalina colesterol. Tales resultados, no concuerdan con los obtenidos por ORLANDINI<sup>15</sup>, quien observó aumento de la positividad de la cefalina colesterol en distróficos policarenciales, a medida que se operaba la recuperación clínica. Creemos que esta diferencia de hallazgos se debe a que en aquellos casos no se empleó tratamiento dirigido a mejorar el estado hepático.

Si examinamos en un cuadro individual las variaciones de la positividad de las reacciones, podemos obtener datos de gran valor, que corroboran nuestras afirmaciones anteriores, Cuadro N° 12.

CUADRO N° 12

VARIACIONES DE LA INTENSIDAD DE LAS REACCIONES DE CEFALINA COLESTEROL  
ANTES Y DURANTE EL TRATAMIENTO

Control	Porcentaje de casos con				
	0	1+	2+	3+	4+
Antes del tratamiento .....	6.0	0.0	23.3	63.3	6.6
20 días de tratamiento .....	6.6	26.6	56.6	10.0	0.0
40 días de tratamiento * .....	42.8	28.6	17.8	10.8	0.0
60 días de tratamiento ** .....	60.0	20.0	16.0	4.0	0.0

\* Corresponde a 28 casos

\*\* Corresponde a 25 casos.

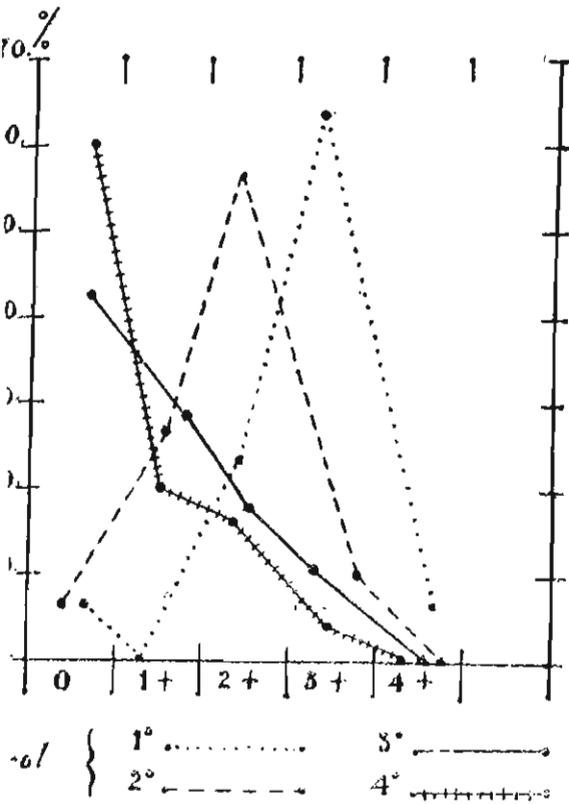
Se observa en el cuadro anterior que los porcentajes de casos negativos fueron aumentando, y al contrario, disminuían los correspondientes a los de mayor intensidad. Se nota también que hay una franca tendencia de las reacciones de desplazarse hacia la izquierda, de las de mayor intensidad hacia las de menor intensidad.

En la gráfica 1, están representados los datos correspondientes a las variaciones de intensidad de las reacciones, así como los porcentajes de positividad, durante el tratamiento.

Puede apreciarse que mientras en el primer control (antes del tratamiento predominaban las reacciones de 3 +, en el segundo control (20 días), son más numerosas las de 2 +, para el tercer y cuarto controles (40 y 60 días, respectivamente), ser mucho más frecuentes las reacciones negativas y de 1 +.

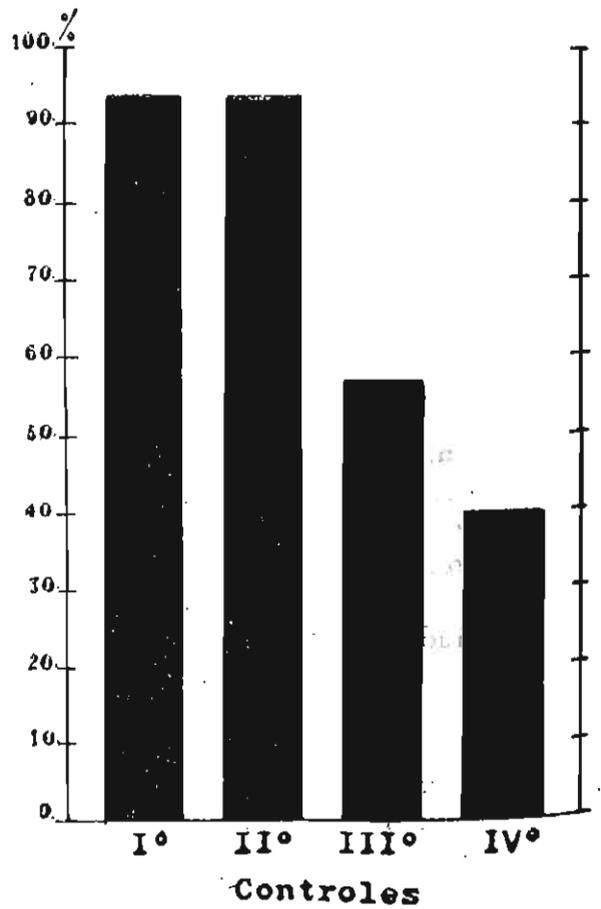
En la gráfica 2 se han representado los porcentajes de positividad en la reacción de cefalina colestrol, antes y durante el tratamiento con aminoácidos y cloruro de colina. En cada uno de los controles, se han tomado como índice de positividad las reacciones de 1 +, 2 +, 3 + y 4 +. Se nota que a medida que ha transcurrido el tratamiento, las respuestas han sido menos positivas, para disminuir del 93.4%, antes de iniciarse la medicación, al 40%, a los 60 días.

GRAFICA Nº 1



Distróicos Policarenciales  
Comportamiento de la Cefalina-Colesterol.

GRAFICA Nº 2



Distróicos Policarenciales  
Positividad de la Cefalina-Colesterol.

2º *Timol*: Los resultados obtenidos en los cuatro controles realizados antes y durante el tratamiento con aminoácidos y cloruro de colina, se expresan en el Cuadro N° 13.

CUADRO N° 13

## REACCIÓN DEL TIMOL EN DISTRÓFICOS

Resultados obtenidos antes y durante el tratamiento con aminoácidos y cloruro de colina

Control	Intensidad de la reacción	Número de casos	Porcentaje de casos	Porcentaje positivos*
Antes del tratamiento (30 Casos)	0	1	3.3	96.7 %
	1 +	0	0.0	
	2 +	12	40.0	
	3 +	16	53.3	
	4 +	1	3.3	
A los 20 días (30 Casos)	0	1	3.3	96.7 %
	1 +	3	10.0	
	2 +	19	63.3	
	3 +	7	23.3	
	4 +	0	0.0	
A los 40 días (28 Casos)	0	4	14.3	85.7 %
	1 +	9	32.1	
	2 +	12	42.9	
	3 +	3	10.7	
	4 +	0	0.0	
A los 60 días (25 Casos)	0	12	48.0	52.0 %
	1 +	8	32.0	
	2 +	4	16.0	
	3 +	1	4.0	
	4 +	0	0.0	

\* Se incluyen los porcentajes correspondientes a las reacciones de 1 +.

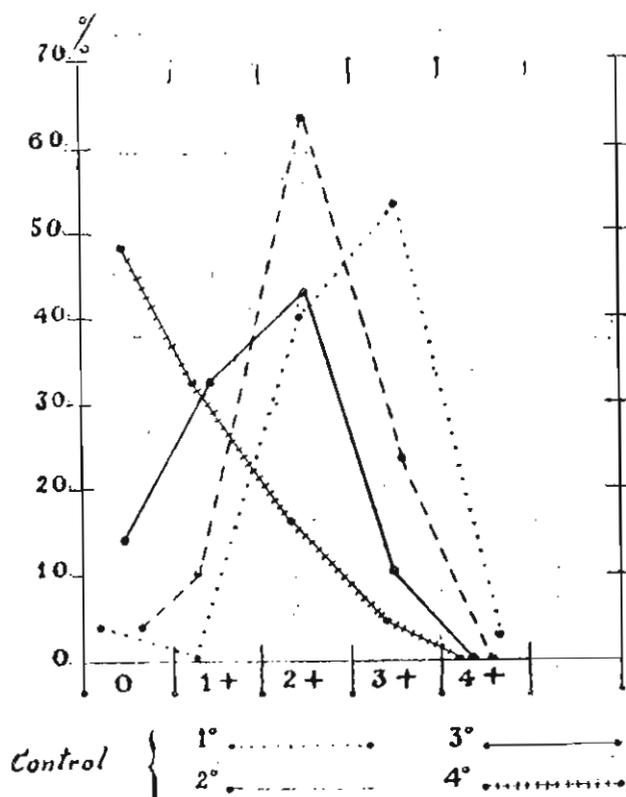
Analizando las cifras del cuadro anterior, podemos deducir los siguientes hechos:

En el primer control, antes del tratamiento, el porcentaje de casos positivos fué del 96.7%. En este momento eran más frecuen-

tes las respuestas de fuerte intensidad, 3 + y 2 +, con el 53.3 y 40.0%, respectivamente. No hubieron respuestas de débil intensidad 1 +, y en cambio; sólo se presentó 1 caso de máxima intensidad 4 +.

En el segundo control, a los 20 días, el porcentaje de positividad como en el caso de la cefalina-colesterol, permaneció en la misma cifra del control inicial, o sea en el 96.7% de los casos. Hubo en cambio fuerte viraje de las respuestas de máxima intensidad, a las de menor intensidad. Así, las reacciones de 2 +, fueron las más frecuentes, con 63.3%, y disminuyeron las de 3 + al 23.3%. Las respuestas positivas de 1 +, alcanzaron el 10.0%.

GRÁFICA Nº 3



*Distróicos Policarenciales*  
Comportamiento de la reacción de Timol.

En el tercer control, a los 40 días, la positividad de las respuestas fué del 85.7%. En esta fecha fueron más numerosas las reacciones de 2 + y 1 +, con el 42.9 y 32.1%, respectivamente. Los resultados positivos de 3 + disminuyeron al 10.7% de los casos.

En el cuarto control, a los 60 días, la positividad fué del 52.0%. Predominaron las respuestas de 1 + con el 32.0%; las de 2 + solamente tuvieron el 16.0%. Hubo 1 caso de intensidad de 3 +, o sea el 4.0%.

Como se ve, los resultados de la reacción de floculación del timol, indican que la administración de aminoácidos y cloruro de colina, es benéfica para la disminución de la positividad de esta reacción. Tales hallazgos están de acuerdo con los obtenidos en cirróticos<sup>126</sup>, y en distróficos<sup>15</sup>.

En la gráfica N° 3, se ha representado las variaciones de intensidad de la reacción de floculación de timol, antes y durante del tratamiento con aminoácidos y cloruro de colina.

Como se vé, mientras en el primer control (antes del tratamiento), predominan las reacciones de 3 +, superando al 50%; en el segundo control, hay mayor número de casos con reacciones de 2 + de intensidad; en el tercero, hay una ligera disminución de las reacciones de 2 +, son muy pocas las de 3 + y han aumentado notablemente las de 1 +. En el cuarto control, a los 60 días de tratamiento, las reacciones de 1 + predominan sobre las de mayor intensidad y hay un registro mayor de reacciones negativas.

En el cuadro N° 14, hemos agrupado los porcentajes correspondientes a la intensidad de las reacciones, antes y durante el tratamiento, con el propósito de establecer una mejor comparación entre cada una de ellas.

CUADRO N° 14

VARIACIONES DE LA INTENSIDAD DE LA REACCIÓN DE TIMOL ANTES Y DURANTE EL TRATAMIENTO

Control	Porcentaje de casos con				
	0 %	1 + %	2 + %	3 + %	4 + %
Antes del tratamiento	3.3	0.0	40.0	53.3	3.3
20 días de tratamiento	3.3	10.0	63.3	23.3	0.0
40 días de tratamiento *	14.3	32.1	42.9	10.7	0.0
60 días de tratamiento *	48.0	32.0	16.0	4.0	0.0

\* Corresponde a 28 casos.

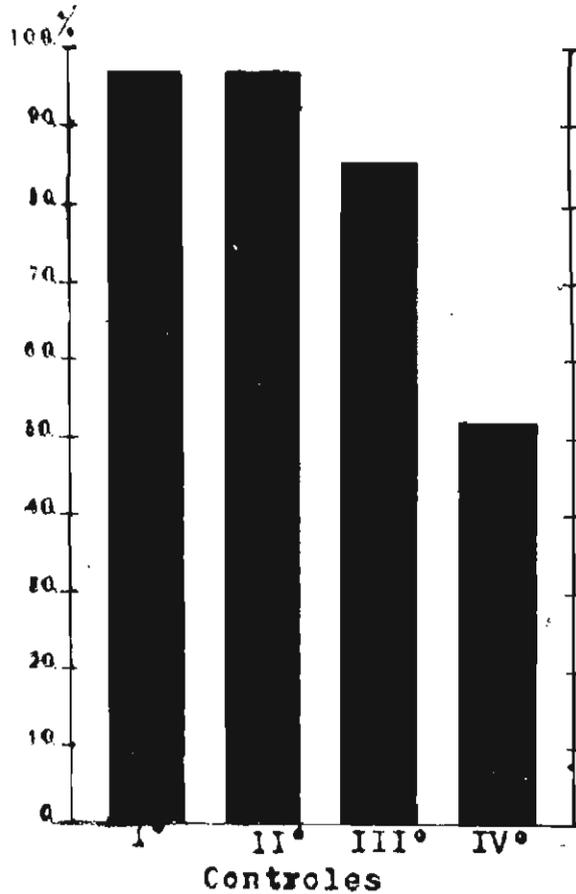
\* Corresponde a 25 casos.

Se puede comprobar que mientras los casos negativos han aumentado del 3.3 al 48.0%, desde el inicio a los 60 días de tratamiento, la intensidad de las reacciones ha variado de las de mayor intensidad de floculación a las de menor intensidad. Sin embargo, aún a los 60 días, se registra un 16% de respuestas positivas de 2 + y 4.0% de 3 +, como no se observa en el caso de la cefalina colesteroil.

En la gráfica N° 4, se representa la positividad de la reacción del timol en los cuatro controles.

Se han representado gráficamente los porcentajes de positividad de la reacción de floculación de timol, antes y durante el tratamiento con aminoácidos y cloruro de colina, en un grupo de lactantes distróficos. Los controles se efectuaron antes del tratamiento y a los 20, 40 y 60 días. En cada columna se incluyen los porcentajes de positividad desde 1+, 2+, 3+ y 4+. Se aprecia que a medida que han sido más los días del suministro de aminoácidos y colina, los promedios de casos positivos han ido disminuyendo, de 96.7 a 52.0%.

GRAFICA N° 4



*Distróficos Policarenciales  
Positividad del Timol.*

3° Oro coloidal: Los resultados obtenidos en los cuatro controles, con la reacción de floculación de oro coloidal, en lactantes distróficos sometidos a tratamiento con aminoácidos y cloruro de colina, se expresan en el cuadro N° 15. La reacción se llevó a cabo en un solo tubo<sup>122</sup>.

CUADRO Nº 15

## REACCIÓN DE ORO COLOIDAL EN DISTRÓFICOS

Resultados obtenidos antes y durante el tratamiento con aminoácidos y cloruro de colina

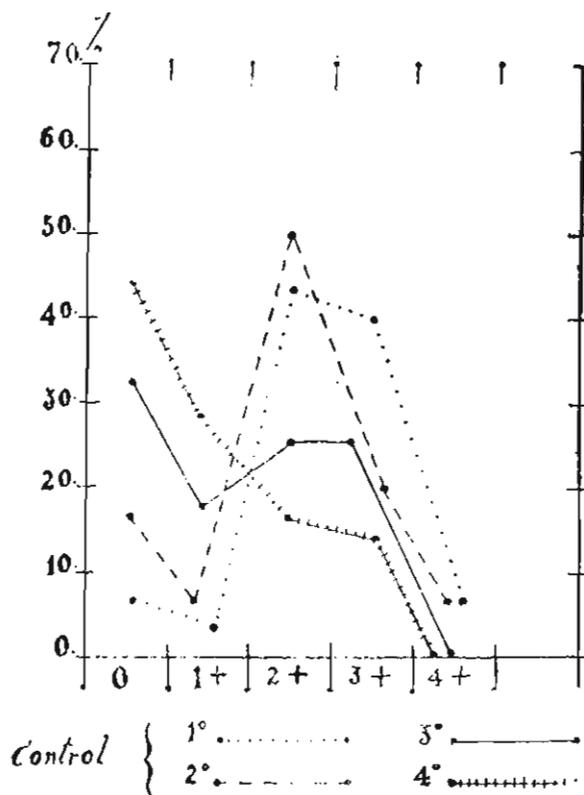
Control	Intensidad de la reacción	Número de valores	Porcentaje de casos	Porcentaje positivos *
Antes del tratamiento (30 Casos)	0	2	6.6	90.0 %
	Nº 1	1	3.3	
	Nº 2	13	43.3	
	Nº 3	12	40.0	
	Nº 4	2	6.6	
	Nº 5	0	0.0	
A los 20 días (30 Casos)	0	5	16.6	76.8 %
	Nº 1	2	6.6	
	Nº 2	15	50.0	
	Nº 3	6	20.0	
	Nº 4	2	6.6	
	Nº 5	0	0.0	
(30 Casos) A los 40 días (28 Casos)	0	9	32.1	50.0 %
	Nº 1	5	17.9	
	Nº 2	7	25.0	
	Nº 3	7	25.0	
	Nº 4	0	0.0	
	Nº 5	0	0.0	
A los 60 días (25 Casos)	0	11	44.0	28.0 %
	Nº 1	7	28.0	
	Nº 2	4	16.0	
	Nº 3	3	12.0	
	Nº 4	0	0.0	
	Nº 5	0	0.0	

Analizando las cifras señaladas en el cuadro anterior, se tiene:

Que en el primer control, antes del tratamiento, las reacciones dieron respuestas positivas en el 90.0% de los casos. Las respuestas fueron más numerosas en el grupo de intensidad 2, con 43.3%, y luego en el 3, con 40.0%. Se registraron solamente 2 casos de floculación 4, o sea el 6.6%.

En el segundo control, a los 20 días, la positividad del oro coloidal disminuyó al 76.8%, en contraste con las respuestas encontradas en las reacciones de cefalina-colesterol y timol, que permanecieron positivas en el mismo número de casos que en el control inicial, o sea el 93.4 y 96.7%, respectivamente. En este momento no sólo se presentó mayor número de respuestas negativas, sino que al mismo tiempo disminuyeron aquellas de máxima intensidad. Los resultados de intensidad 2, fueron las más frecuentes, y correspondieron al 50.0% de los casos. Las floculaciones del grupo 3, disminuyeron al 20.0% y solamente se obtuvieron 2 respuestas de intensidad 4.

GRAFICA Nº 5



*Distróficos Policarenciales  
Comportamiento del Oro Coloidal.*

En el tercer control, a los 40 días, las respuestas sólo fueron positivas en el 50%, de los casos. No se presentó ninguna reacción de intensidad 4. Las floculaciones de los grupos 2 y 3, tuvieron el 25.0%, cada una y sobre ellas descansó la positividad del oro.

En el cuarto control, a los 60 días, la positividad de las reacciones fué del 28.0%. Las respuestas de intensidad 2 y 3, fueron del 16 y 12%, respectivamente. No se presentó ningún caso con resultados de máxima intensidad.

En la gráfica N° 5, se han representado las variaciones de intensidad de las respuestas del oro coloidal, en los diferentes controles realizados. Se puede observar que mientras en el primer control, hubo casi el mismo número de respuestas de intensidad 2 y 3, se obtuvieron muy pocas respuestas de máxima y menor intensidad. En el segundo control, predominan apreciablemente las respuestas de grado 2, habiendo disminuido notoriamente las de intensidad 3. En el tercer control, hay casi el mismo número de reacciones con intensidades 2 y 3, y han aumentado francamente las respuestas negativas. En el último control, los resultados negativos son mucho más numerosos que los positivos. Obsérvese el desplazamiento progresivo de las respuestas hacia la izquierda, y ascenso de los resultados negativos.

En el cuadro N° 16, hemos catalogado las variaciones de las respuestas de la reacción de oro coloidal, en los diferentes controles realizados.

CUADRO N° 16

## VARIACIONES DE LA REACCIÓN DE ORO COLOIDAL

Resultados obtenidos antes y durante el tratamiento con aminoácidos y cloruro de colina

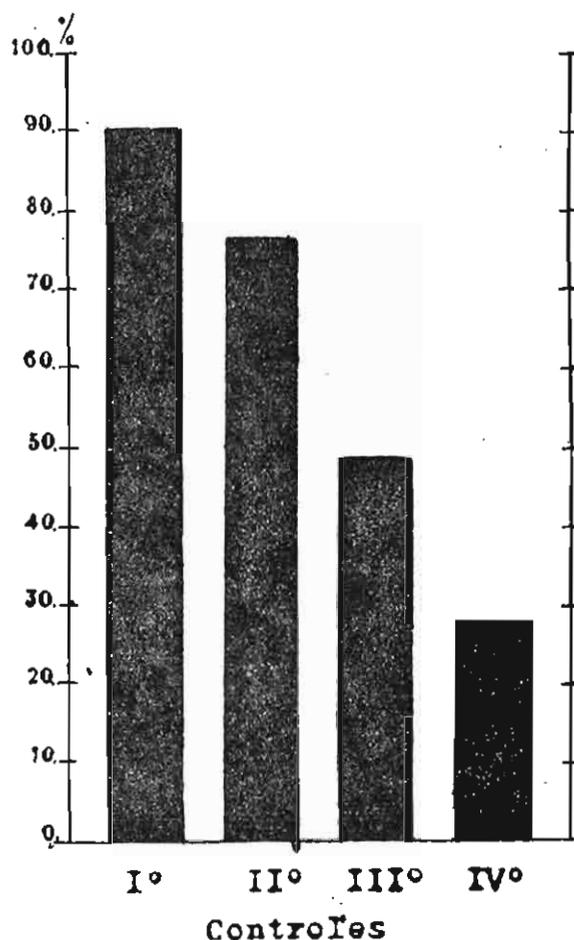
Control	Porcentaje de casos con					
	0	N° 1	N° 2	N° 3	N° 4	N° 5
Antes del tratamiento	6.6	3.3	43.3	40.0	6.6	0.0
A los 20 días de tratamiento	16.6	6.6	50.0	20.0	6.6	0.0
A los 40 días de tratamiento *	32.1	17.9	25.0	25.0	0.0	0.0
A los 60 días de tratamiento *	44.0	28.0	16.0	12.0	0.0	0.0

\* Corresponde a 28 casos.

\* Corresponde a 25 casos.

Se observa que las respuestas de máxima intensidad N° 5, no se registraron en ningún caso, y en muy escaso porcentaje: 6.6% en el grado N° 4, en los dos primeros controles. Las reacciones al inicio fueron predominantemente de intensidad 2 y 3, con 43.3 y 40.0%, respectivamente. En el segundo control, hay un franco aumento de las respuestas de intensidad 2, con el 50.0%; en cambio han disminuido las de grado 3 al 20.0%. Los resultados negativos llegan al 23.3% (0 y 1). En el tercer control, las respuestas de grado 2 y 3, tienen igual porcentaje 25.0, cada una, y hay

GRAFICA N° 6



*Distróficos Policarenciales  
Positividad del Oro Coloidal.*

un gran aumento de las respuestas negativas (0 y 1). En el último control, las respuestas de intensidad 2 y 3, han disminuido al 16.0 y 12.0%, respectivamente, y en cambio las negativas (0 y 1), llegan al 72.0%.

En la gráfica Nº 6, se ha representado las variaciones de la positividad del oro coloidal en los diferentes controles realizados. En cada columna se han incluido los porcentajes correspondientes a las reacciones de intensidad de floculación 2, 3, 4. Se puede apreciar que en el transcurso del tratamiento (II, III y IV Controles), las respuestas positivas han ido disminuyendo del 90.0% al inicio, al 76.3% en el segundo, 50.0% en el tercero y 28.0% en el cuarto, denotando al igual que el timol y la cefalina, una mejoría de la función hepática.

### III. *Variaciones de las cifras de plasmoproteínas, hemoglobina y hematocrito y de las pruebas hepáticas de floculación antes y durante el tratamiento.*

Hemos reunido los resultados obtenidos en los diversos controles, efectuados en el mismo grupo de lactantes distróficos, de las cifras de plasmoproteínas, hemoglobina y hematocrito, a fin de apreciar mejor las modificaciones que experimentaron durante el tratamiento y establecer su relación con el estado funcional de la célula hepática, manifestado por las pruebas de floculación. Los datos correspondientes a cada uno de los controles, se expresan en los Cuadros 17, 18, 19, 20 y en las Gráficas 7, 8, 9 y 10.

CUADRO N° 17

PRIMER CONTROL

VARIACIONES DE LAS PLASMOPROTEÍNAS, HEMOGLOBINA Y HEMATOCRITO Y PRUEBAS HEPÁTICAS DE FLOCULACION EN CASOS DE DISTROFIA, ANTES DEL TRATAMIENTO

BIOQUIMICA		PRUEBAS HEPATICAS			
Determinación	Resultado grs. x 100 cc. *	Variaciones	Prueba	Porcentaje positividad.	Mayor intensidad **
Proteínas totales	5.45	4.31— 7.15	Cetolina-Colesi.	93.4 %	3 + : 63.3 %
Albumina	2.59	2.03— 4.07			
Globulinas	2.84	2.24— 4.71	Timcl	96.7 %	3 + : 53.3 %
Hazón S/G	0.90	0.54— 2.18			
Hemoglobina	9.13	6.25—15.93	Oro Coloidal ***	90.0 %	Nº 2—3: 83 %
Hematocrito mm. %	32.00	17—56			

\* Se expresan las cifras medias.

\*\* Se expresan las reacciones de mayor porcentaje de positividad.

\*\*\* Se han comprendido los porcentajes de las respuestas de intensidad N° 2 y 3.

CUADRO Nº 18

SEGUNDO CONTROL

VARIACIONES DE LAS PLASMOPROTEÍNAS, HEMOGLOBINA Y HEMATOCRITO Y PRUEBAS HEPÁTICAS DE FLOCULACIÓN EN CASOS DE DISTROFIA DURANTE EL TRATAMIENTO \*

BIOQUÍMICA		PRUEBAS HEPÁTICAS			
Determinación	Resultado grs. x 100 cc. **	Variaciones	Prueba	Porcentaje positividad.	Mayor intensidad ***
Proteínas totales	5.55	4.70—6.70	Cefalina-Colesterol	93.5 %	1 + : 26.6 %
Albumina	2.89	2.20—3.84			2 + : 56.6 %
Globulinas	2.63	2.20—3.15	Timol	96.7 %	2 + : 63.3 %
Razón S/G	1.18	0.72—1.96			3 + : 23.3 %
Hemoglobina	9.75	8.06—12.20			Nº 2 : 50.0 %
Hematocrito mm. %	32.6	25—47	Oro Coloidal		Nº 3 : 20.0 %

\* Con aminoácidos y cloruro de colina.

\*\* Se expresan las cifras medias.

\*\*\* Se expresan las reacciones de mayor porcentaje de positividad.

CUADRO N° 19

TERCER CONTROL

VARIACIONES DE LAS PLASMOPROTEÍNAS, HEMOGLOBINA Y HEMATOCRITO Y PRUEBAS HEPÁTICAS DE FLOCULACIÓN EN CASOS DE DISTROFIA DURANTE EL TRATAMIENTO \*

BIOQUÍMICA		PRUEBAS HEPÁTICAS			
Determinación	Resultado grs. x 100 cc. **	Variaciones	Prueba	Porcentaje positividad.	Mayor intensidad ***
Proteínas totales	5.76	5.12—6.52	Cefalina-Colesterol	57.15 %	1 + : 28.6 %
Albumina	3.10	2.48—3.65			2 + : 17.8 %
Globulinas	2.64	2.25—3.60			1 + : 32.14 %
Razón S/G	1.17	1.09—1.98	Timol	85.7 %	2 + : 42.8 %
Hemoglobina	10.45	8.28—12.25			1 + : 25.0 %
Hematocrito mm. %	37.15	28—42	Oro Coloidal	50.0 %	2 + : 25.0 %

\* Con aminoácidos y cloruro de colina.

\*\* Se expresan las cifras medias.

\*\*\* Se expresan las reacciones de mayor porcentaje de positividad.

CUADRO Nº 20

CUARTO CONTROL

VARIACIONES DE LAS PLASMOPROTEÍNAS, HEMOGLOBINA Y HEMATOCRITO Y PRUEBAS HEPÁTICAS DE FLOCULACIÓN EN CASOS DE DISTROFIA DURANTE EL TRATAMIENTO \*

Determinación	Resultado grs. x 100 cc. **	Variaciones	Prueba	Porcentaje positividad.	Mayor intensi- dad ***
Proteínas totales	5.98	5.29— 6.48	Cetina α-Colesterol	40.0 %	1 + : 20.0 %
Albumina	3.37	2.73— 4.00			2 + : 16.0 %
Globulinas	2.62	2.10— 3.04	Timol	52.0 %	1 + : 32.0 %
Razón S/G	1.65	1.21— 1.98			2 + : 16.0 %
Hemoglobina	11.23	9.25—12.69			Nº 2 : 16.0 %
Hematocrito mm. %	40	34—43	Oro Coloidal	28.0 %	Nº 3 : 12.0 %

BIOQUIMICA

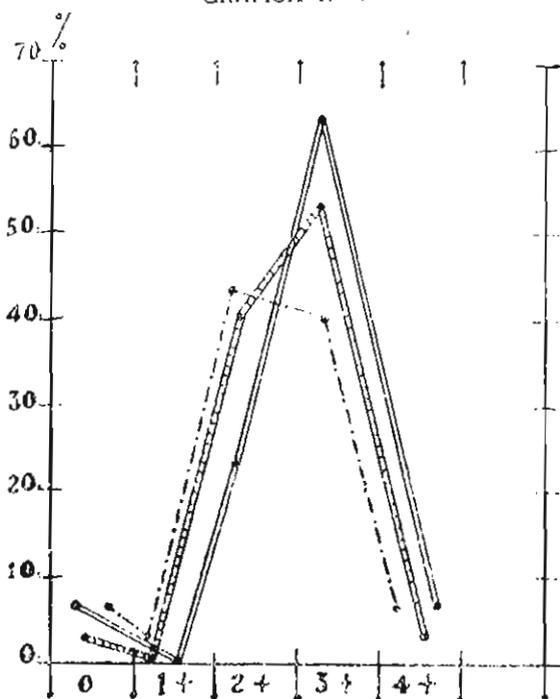
PRUEBAS HEPATICAS

\* Con aminoácidos y cloruro de colina.

\*\* Se expresan las cifras medias.

\*\*\* Se expresan las reacciones de mayor porcentaje de positividad.

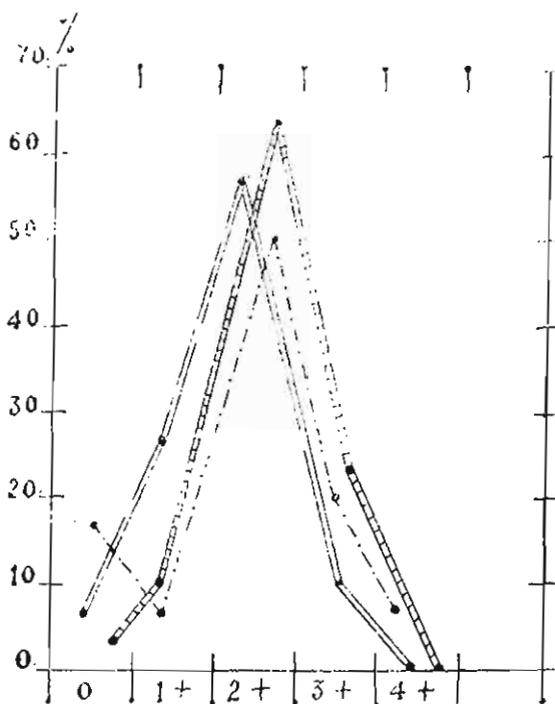
GRAFICA Nº 7



1º Control { CEFALINA C. —●—  
TIMOL —□—  
ORO C. —△—

Pruebas funcionales hepáticas de floculación.  
(Corresponde a 30 casos).

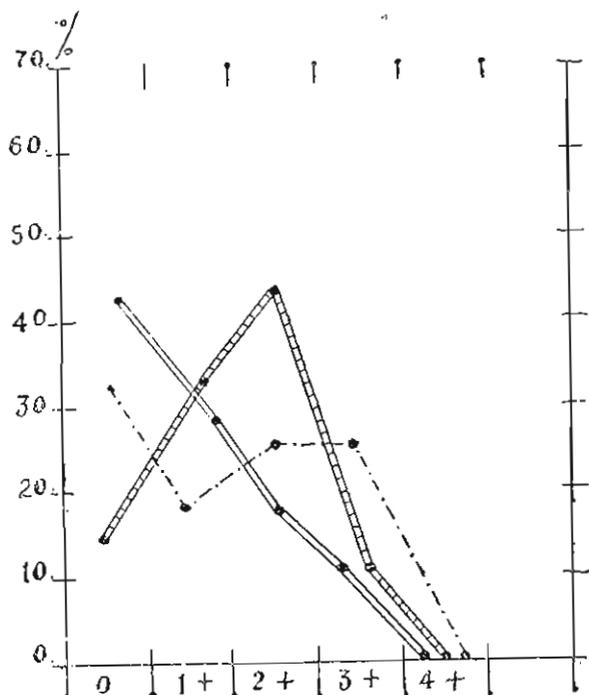
GRAFICA Nº 8



2º Control { CEFALINA C. —●—  
TIMOL —□—  
ORO C. —△—

Pruebas funcionales hepáticas de floculación.  
(Corresponde a 30 casos).

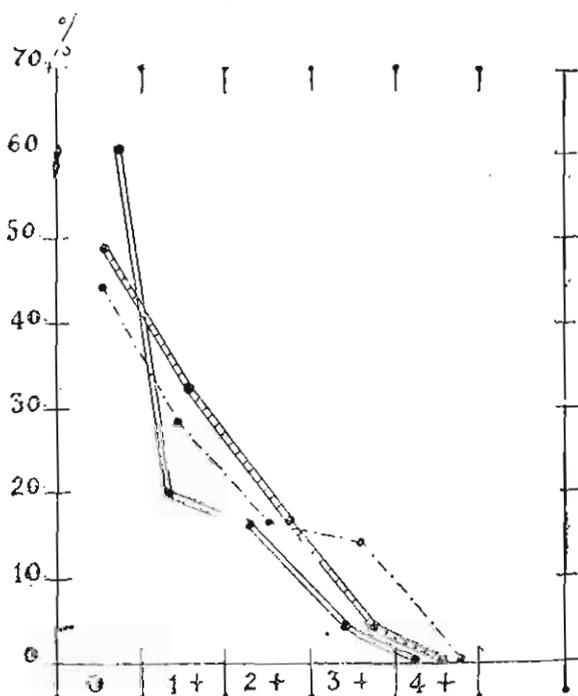
GRAFICA Nº 9



3<sup>er</sup> Control { CEFALINA C. ———●———  
 TIMOL - - - - -  
 ORO C. ······

Pruebas funcionales hepáticas de floculación.  
 (Corresponde a 28 casos).

GRAFICA Nº 10



4<sup>er</sup> Control { CEFALINA C. ———●———  
 TIMOL - - - - -  
 ORO C. ······

Pruebas funcionales hepáticas de floculación.  
 (Corresponde a 25 casos).



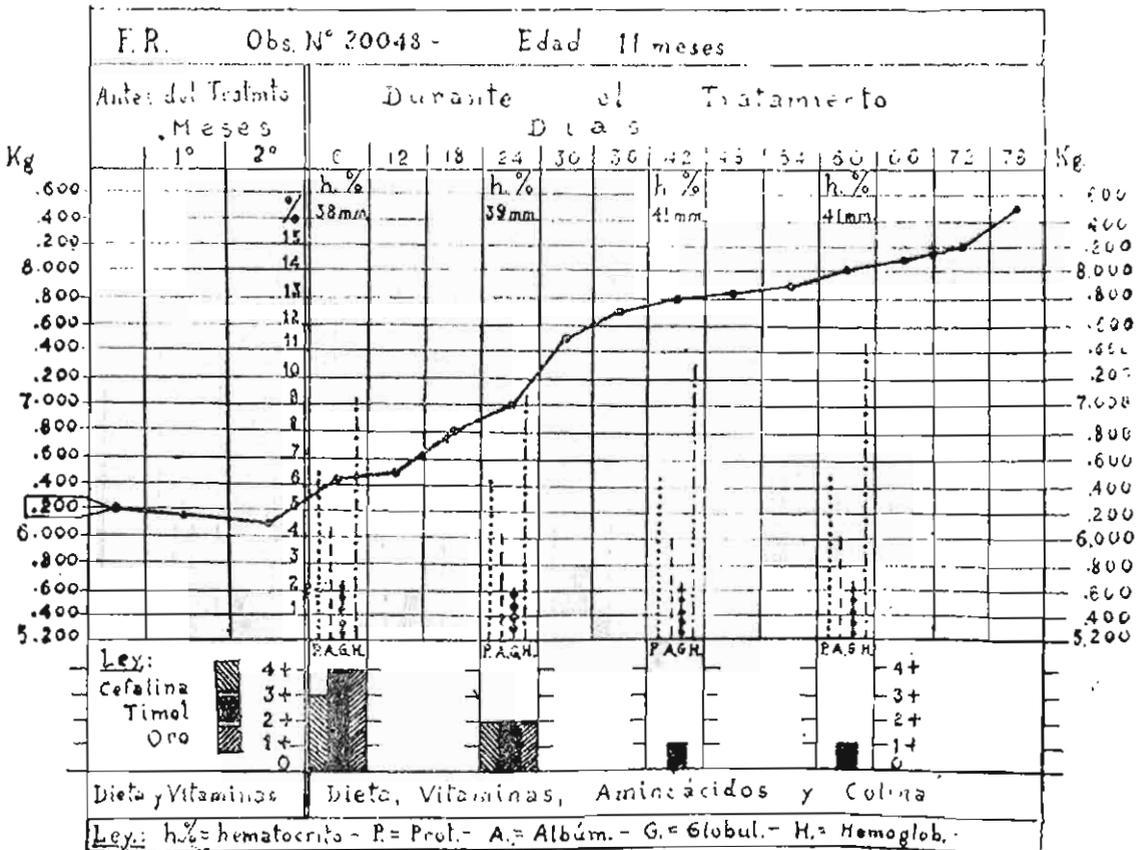
Fué sometido entonces a apropiado régimen dietético, administrándosele sulfas a dosis convenientes. En los primeros días descendió el peso debido a la fusión de los edemas. A las 2 semanas había mejorado de manera notoria, iniciándose alimentación más completa, la que fué incrementándose progresivamente. Recibe también dosis convenientes de Complejo Vitaminico B y Acido Ascórbico, y transfusiones de sangre total de 50 cc. Pese a esta terapéutica el peso aumenta muy ligeramente, pues al cabo de 5 meses o sea cuando el niño tenía 1 año de edad, llegaba solamente a 6.250 grs. El déficit ponderal era superior al 35%.

En esta fecha iniciamos la administración de aminoácidos y cloruro de colina a razón de 2,5 grs. y 0,25 grs. respectivamente por kilo de peso medio al día. Antes y durante el tratamiento realizamos control de la proteinemia, hemoglobina y hematocrito, y del estado funcional del hígado mediante las pruebas de floculación: cefalina, timol y oro coloidal, así como control del peso cada 4 días. Los resultados obtenidos en cada uno de los controles se muestran en la Gráfica N° 11.

El niño después de 60 días de tratamiento, fué dado de alta habiendo mejorado notablemente, con cifras normales de plasmoproteínas, hemoglobina y hematocrito, pruebas hepáticas negativas y habiendo ganado en 2 meses 2.250 gramos de peso.

Caso N° 2.—Obs.: 20048. F. R.

Ingresó al hospital a la edad de 9 meses, por un proceso diarreico que se inició 3 semanas antes de ser llevado a la consulta, que estuvo caracterizado por

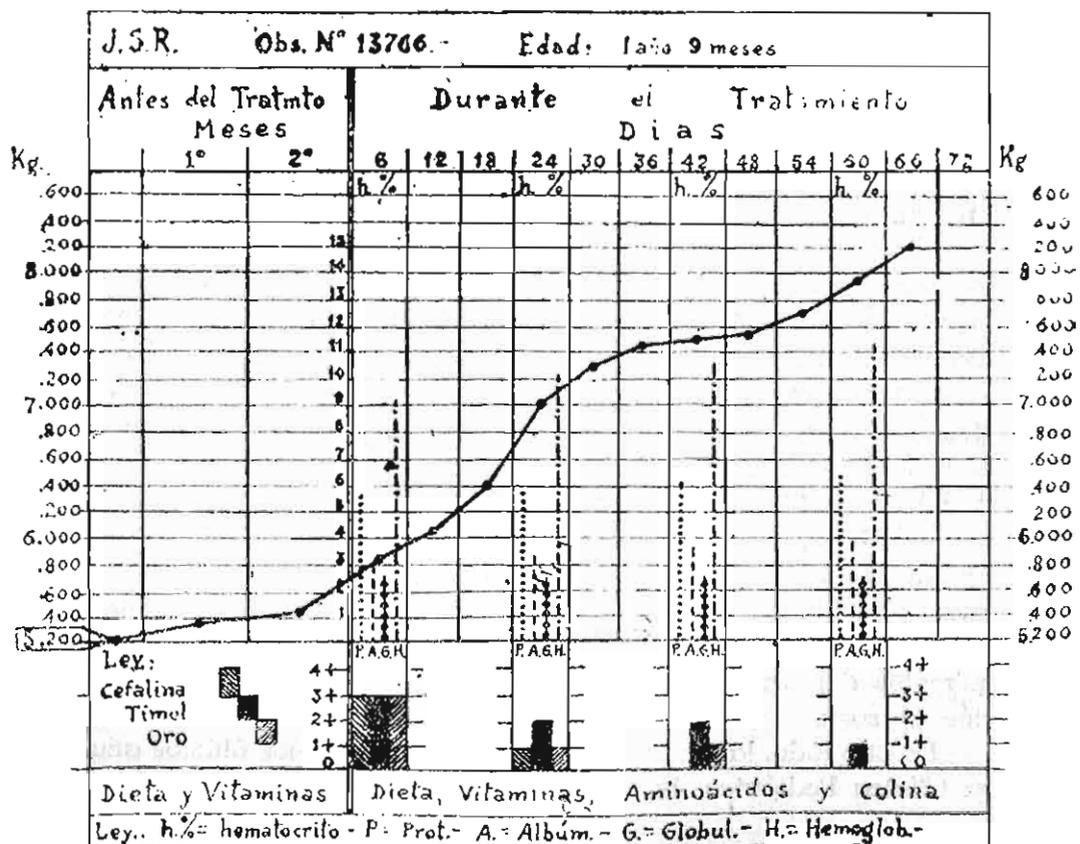


cámaras líquidas en número de 20 al día. Había recibido alimentación materna exclusiva hasta la edad de 6 meses, sin horario y en forma inconveniente. Luego recibió alimentación diversa, leche de vaca, en polvo, etc, y comidas. En el examen clínico se constató que el niño estaba en muy mal estado nutritivo, con edema de las extremidades, además de otros signos de síndrome policarencial, tos y deposiciones líquidas y numerosas y un peso de 6.200 grs. Recibió tratamiento dietético y sulfamídico. En los primeros días el peso descendió 450 grs., coincidiendo con la disminución de los edemas. Se instituye régimen alimenticio y vitamínico y transfusiones de sangre de 50 cc. El enfermito mejora en su estado general y aumenta de peso. A los 2 meses de tratamiento llegó nuevamente a pesar 6.100 grs.

En este momento emprendimos la administración de aminoácidos y cloruro de colina, a las dosis ya señaladas. Los resultados alcanzados con este tratamiento se expresan en la Gráfica N° 12. Puede apreciarse que al mismo tiempo que disminuye la positividad de las reacciones hepáticas de floculación, el niño aumenta de peso, y mejoran las cifras de plasmoproteínas, hemoglobina y hematocrito. Después de 2 meses, el peso se había incrementado en 2,350 grs.

Caso N° 3.—Obs.: 13766. J. S. R.

Había sido hospitalizado a la edad de 1 año y 7 meses, por un cuadro diarreico, fiebre, y decaimiento del estado general. Desde 15 días antes de su ingreso notan edemas de la cara y extremidades. La alimentación había sido



deficiente desde el inicio. A los 7 meses empieza a recibir purés, mazamorras, jugos de frutas, etc., evidentemente a predominio farináceo. El peso al ingreso fué de 5.200 grs.

Se le sometió a régimen dietético y vitamínico y transfusiones de sangre total, durante 2 meses. El peso, sin embargo aumentó muy discretamente a 5.400 grs.

Entonces se empieza el suministro de aminoácidos y cloruro de colina. La mejoría clínica es manifiesta, el niño empieza a aumentar de peso, sus reacciones de floculación se negativan y se incrementa las cifras de proteínas plasmáticas, hemoglobina y hematocrito. Gráfica N° 13.

Después de 56 días de tratamiento, el niño había ganado 3.000 grs. de peso.

#### DISCUSION Y COMENTARIO

En la *Distrofia Policarencial*, resumiendo los resultados obtenidos en las determinaciones de la bioquímica sanguínea, existe: una acentuada baja de proteínas totales y albúminas, aumento de globulinas e inversión de la relación serina-globulina. Los valores de la hemoglobina circulante y del hematocrito, muestran igualmente cifras menores a las normales.

A la vez, las pruebas hepáticas de floculación: cefalina-colesterol, timol y oro coloidal, dan respuestas positivas en más del 90% de los casos, con grados diversos de positividad, indicando un franco compromiso funcional del hígado.

Se tendría que explicar entonces, a que se deben las alteraciones anatómicas y funcionales del hígado, descritas en la distrofia, y si hay o no, alguna relación con las cifras bajas de plasma proteínas y hemoglobina. Es decir, si el daño hepático influye o no, en los trastornos bioquímicos sanguíneos.

Hemos referido que numerosos trabajos experimentales han demostrado que en los casos de déficit proteico o de otros factores esenciales de la alimentación (agentes lipotrópicos, ácidos grasos, vitaminas, etc.), se producen trastornos funcionales del hígado que se traducen por modificaciones cuanti y cualitativas de los diversos componentes sanguíneos, y lesiones anatómicas del tipo de la infiltración grasosa o semejantes a los procesos cirróticos.<sup>42, 43, 44, 45, 47, 48, 60, 61, 62, 62,63, 63</sup> y otros.

Asimismo, en la parte experimental de este trabajo hemos confirmado las investigaciones anteriores, al encontrar que las ratas alimentadas con dieta libre de proteínas y baja en colina, presentan a los pocos días de la prueba intensas lesiones parenquimales del hígado, una de cuyas características es la infiltración grasosa.

De otro lado, las investigaciones realizadas en los últimos años en Clínica Pediátrica, han comprobado que los *distróficos* tienen

alteraciones funcionales del hígado <sup>11, 12, 13, 14, 15, 114, 115</sup>, y lesiones anatómicas caracterizadas por: infiltración grasosa, degeneración vacuolar del citoplasma, infiltración linfoplasmática y conjuntiva picnosis nuclear o necrosis focal de grados diversos <sup>9, 11, 15, 114</sup>, y que tales lesiones pueden mejorar con la administración de colina y otros agentes lipotrópicos<sup>9, 114</sup>.

¿Cual sería, pues, la causa de la degeneración grasosa del hígado en la distrofia?

Los trabajos del Prof. C. F. KRUMDIECK<sup>1, 2</sup>, han puesto de manifiesto que en nuestro medio la principal alimentación que reciben los lactantes de las clases modestas —entre quienes es más frecuente la desnutrición— está constituida fundamentalmente por hidratos de carbono, con ausencia casi completa de proteínas, grasas y vitaminas. Este tipo de dieta, se establece a los pocos meses de nacimiento, precisamente, cuando las necesidades de materiales plásticos y catalíticos, son más exageradas pues tienen que abastecer las demandas del crecimiento. Además, señala el mismo autor, en nuestra población existe la tendencia a suprimir todo alimento o a abusar de dietas farináceas prolongadas para corregir procesos dispepticos de los primeros meses de vida.

Resulta así que el lactante estaría sometido casi de manera permanente a un tipo de "dieta experimental" o "ayuno experimental", semejante a las que se utilizan en el laboratorio para inducir el hígado graso en los animales, que daría lugar a un tremendo desequilibrio nutritivo y metabólico, así como de las relaciones que normalmente existen entre los constituyentes de la dieta.

El organismo en consecuencia, para compensar el déficit proteico alimenticio, se vería obligado a movilizar sus reservas orgánicas, siendo el hígado el órgano más afectado<sup>17, 19, 20, 21, 22, 23</sup>. Al mismo tiempo, se produciría una gran movilización de las grasas de los depósitos para ser transformadas en cuerpos cetónicos y energía y una parte de los glúcidos de la alimentación, serían transformados, a su vez, en grasas. Se establecería de este modo un notable incremento de los lípidos hepáticos y retardo de su "turnover", dificultándose su transformación en fosfolípidos y correcta distribución a los demás órganos y tejidos de la economía. Al principio, el depósito de grasas en el hígado tendría un carácter fisiológico, y obedecería a una demanda exagerada de las combustiones y retardo del metabolismo lípido a nivel de dicha glán-

dula; más tarde, si la dieta sigue insuficiente y no aporta las cantidades normales de sustancias lipotróficas, la grasa se depositaría en mayor proporción y daría entonces un carácter patológico.

Tales consideraciones están de acuerdo con los estudios de GILLMANN y GILLMANN<sup>9</sup>, y MENEGHELLO<sup>14</sup>, quienes consideran que es la hipoalimentación, particularmente la excesiva administración de hidratos de carbono y mínimos o nulas proporciones de proteínas, la causa determinante de la esteatosis hepática del distrófico.

Si bien es cierto que la carencia proteica y la elevada cantidad de glúcidos ocasionan degeneración grasosa, existen también en la alimentación otras sustancias cuya deficiencia o dosificación desproporcionada contribuye a producir adiposis hepática. En efecto, se ha señalado que la falta de ácidos grasos linoleico y arachidónico, y el exceso de ácido guanidín acético, colesterol, cistina, biotina, tiamina, riboflavina, extracto hepático, etc., en la dieta, llegan a producir degeneración grasosa del hígado, más o menos intensa, en los animales de experimentación<sup>34, 38, 39, 62, 64, 69, 72, 78, 79</sup>, etc.

Por otra parte, HORNING y ECKSTEIN<sup>64</sup>, han encontrado que las ratas que reciben dietas que contienen solamente 5% de caseína desarrollan infiltración grasosa del hígado, la que puede prevenirse si se agrega una buena proporción de metionina al estado puro o se aumenta la cantidad de caseína; a la vez, en las ratas jóvenes en crecimiento, la metionina dada mediante el suministro de caseína no tendría acción lipotrófica, en cambio sí al estado cristalizado. Esto demostraría que durante el crecimiento, tanto la caseína como la metionina, son utilizadas por el organismo en la formación de nuevos tejidos, y no intervendrían en el metabolismo de los lípidos.

La importancia del crecimiento en la génesis de la adiposis hepática cuando el aporte alimenticio es inadecuado, se ve confirmada por la experiencia de HANDLER y DANN<sup>187</sup>. Estos autores demostraron que la deficiencia de colina no ocasiona infiltración grasosa en las ratas que son privadas de desarrollar por la carencia alimenticia de sales minerales y vitaminas; al contrario, si las funciones de crecimiento se mantienen o son aceleradas, la esteatosis se manifiesta rápidamente.

Estos hechos tienen una gran importancia en Pediatría, desde que en el niño la única fuente proteica es la caseína. En aquellos

lactantes mal alimentados, la proporción de caseína que se les suministra es muy reducida, y casi toda debe ser utilizada en los procesos de desarrollo y crecimiento, de manera que su acción lipotrófica es limitada o nula. Es probable que durante los primeros meses de vida el único agente lipotrófico que actúe sea la metionina.

Aunque es indudable que en la desnutrición el órgano más afectado es el hígado, las lesiones que presenta no están circunscritas solamente a la degeneración grasosa, sino que éstas son de las más visibles. WANG, HEGSTED, LAPI, ZAMCHECK y BLACK<sup>188</sup>, han informado que las ratas sometidas a dieta exenta de proteínas y pobre en colina, además de la infiltración grasosa presentan otras lesiones histológicas del hígado, caracterizadas por alargamiento de las células, degeneración vacuolar del citoplasma, picnosis nuclear e hiperplasia de los elementos retículoendoteliales. Nosotros, en ratas sometidas a privación proteica, también hemos hallado alteraciones histológicas similares, además de una gran distorsión de la arquitectura de los lobulillos e intensa congestión de los elementos venosos intra y extralobulillares. Estas lesiones fueron mucho más precoces que la degeneración grasosa. Es posible entonces, que tales trastornos influyan de modo notable en el fisiologismo general de la glándula, y afecten por lo tanto a todas sus funciones. Creemos que a ellas se debe la poca relación que existe entre las pruebas hepáticas de floculación y los diversos grados de esteatosis hepática que señalan diversos autores en la distrofia<sup>15, 114, 115</sup>.

En efecto, las pruebas hepáticas de floculación indican solamente sobre la magnitud del daño celular y no el grado de infiltración grasosa del hígado. Además, como expresan MAGLAGAN y BUNN<sup>189</sup>, miden fracciones especiales de las proteínas plasmáticas, principalmente gamma globulinas. La floculación de las suspensiones o soluciones coloidales (cefalina-colesterol y oro coloidal), está condicionada a una alteración de las proporciones relativas de los diferentes tipos de proteínas del plasma o a una modificación cuanti y cualitativa de cada una de ellas. Una baja acentuada de serina o una elevación de las globulinas, es una condición que favorece la floculación de las sustancias que se emplean en el laboratorio para los diferentes test. Las albúminas son coloides protectores y las globulinas agentes precipitantes; sus modificaciones serían responsables del diverso comportamiento de las pruebas de flocula-

ción. En el sujeto normal ambas acciones están equilibradas y no se produce la floculación: GRAY<sup>190, 191</sup>, MOORE, PIERSON y HANGER<sup>192</sup>.

De otro lado en los trastornos hepáticos se ha llegado a determinar por medio de estudios electroforéticos<sup>112, 113</sup>, que el hígado produce con más facilidad globulinas que albúminas, por ser proteínas de mayor peso molecular, aumentando por tanto la globulinemia y disminuyendo las serinas. Aún más, cuando hay lesiones parenquimatosas difusas, la célula hepática formaría mayor cantidad de globulina gamma, que alfa globulina y serina. Desde que el hígado es el encargado de formar albúminas utilizando globulinas gamma, como lo establece MOORE<sup>193</sup>, cuando se lesiona la célula hepática, disminuye su capacidad de metabolizar la gamma globulina y por consiguiente, incrementan su tasa en la sangre con la correspondiente disminución de albúminas. En los sujetos con lesiones hepáticas, el suero contiene mayor proporción de gamma globulina, las que determinan la floculación del oro coloidal y de cefalina colesterol<sup>193, 196</sup>.

En el distrófico existe un apreciable aumento de globulinas y disminución de serinas. Faltaría determinar por electroforesis cuál es la fracción globulínica mayormente incrementada. Sin embargo, es probable que haya un evidente predominio de gamma globulina ya que la positividad de las reacciones de floculación es de gran intensidad.

Si el hígado está comprometido, la función de proteinogénesis es afectada de manera manifiesta<sup>113</sup>. Está probado que las plasmoproteínas disminuyen cuando existen trastornos anatómicos y funcionales del hígado, por incapacidad de la célula para metabolizar correctamente las sustancias nitrogenadas provenientes de la alimentación. Las investigaciones experimentales y clínicas así lo han confirmado<sup>106, 107, 109, 110, 111, 112, 113, 126</sup>, existiendo incremento de las globulinas y disminución de las albúminas<sup>112, 113, 126</sup>.

La hemoglobina, por su parte, requiere de una proteína —globina— para su síntesis<sup>174</sup>. El aporte insuficiente de proteínas y las lesiones hepáticas concomitantes, además de los procesos infecciosos diversos que presenta el distrófico, serían las causas determinantes de su acentuada disminución en dichos casos.

En el distrófico, además de los trastornos a nivel del hígado, se observa una mengua acentuada de otras funciones vitales. En efecto, MONTENEGRO<sup>104</sup>, ha demostrado que los niños en esta con-

dición, presentan hipoclorhidria e hipopepsia y, en consecuencia, sus actividades digestivas están notablemente disminuidas, dando lugar a que los alimentos al llegar al estómago no completen su normal degradación y pasen al intestino, sin haber sido convenientemente transformados. Si agregamos que los estudios de MAGALAES CARVHALLO<sup>194</sup>, han comprobado la existencia de disminución de las secreciones pancreáticas, en los mismos enfermos, se puede concluir, que el distrófico es un insuficiente digestivo, y que por consiguiente, a pesar de que reciba una dieta perfectamente balanceada y que contenga adecuada cantidad de proteínas, grasas e hidratos de carbono, no puede aprovecharlos, por existir causas orgánicas y funcionales múltiples que impiden su transformación en sustancias más fácilmente asimilables y difusibles. El niño, mantiene entonces su estado de hipoalimentación, la cronicidad de la afección continúa, y cada vez es más precario su estado nutritivo.

El tratamiento de la distrofia ofrece pues, especiales características según el tiempo de duración y la magnitud del proceso. En los primeros estadios el organismo es capaz de mantener un adecuado balance nutritivo movilizando sus reservas de los tejidos de menor importancia hacia aquellos encargados de funciones vitales. En cambio, si la deficiencia alimenticia continúa o se hacen presentes algunos factores que perturben el metabolismo general u ocasionen mayor demanda de determinados principios nutritivos, los trastornos funcionales y las lesiones anatómicas se hacen sensiblemente manifiestas. En el primer caso, el suministro de aquellos factores que faltan en la dieta corrige los trastornos. En el segundo, la terapéutica requiere de elementos específicos que contribuyan a mejorar las lesiones y proporcionen, al mismo tiempo al organismo, sustancias nutritivas y plásticas, perfectamente asimilables, que ahorrando trabajo, reparen las lesiones. Es decir, el suministro de aquellos principios que disminuyan la esteatosis hepática y permitan el retorno del normal fisiologismo de esta glándula y demás órganos y tejidos afectados.

Los aminoácidos y cloruro de colina ofrecían estas condiciones. Numerosos trabajos publicados los colocaban como los agentes lipotróficos más eficaces, y los más efectivos en el tratamiento de la cirrosis hepática<sup>123, 154, 155, 156, 158, 160</sup>. Además, se había descrito la importancia del uso clínico de los aminoácidos obtenidos por hidrólisis enzimática de la caseína, como fuente nitrogenada

capaz de mantener un adecuado equilibrio metabólico en diversos procesos en que el desgaste proteico es exagerado. HARTMAN, LAWLER y MEEKER<sup>195</sup>, ALTSCHULER, SALRYUN<sup>196</sup>, SPIES, MOREY<sup>197</sup>, etc. así como la acción de la colina en el tratamiento de la cirrosis hepática BEAMS<sup>124, 126, 127, 128, 129</sup>.

Nosotros utilizamos el hidrolizado enzimático de caseína y el cloruro de colina en el tratamiento de lactantes distróficos. Los resultados en casi todos los casos fueron favorables. En efecto, a los pocos días del suministro de estos preparados fué manifiesta la mejoría clínica y las pruebas hepáticas de floculación disminuyeron de positividad, la que fué siendo cada vez menor a medida que continuaba el tratamiento (Casos 1, 2 y 3). (Gráficas 7, 8, 9, 10). Igualmente, la recuperación de las cifras de plasmoproteínas, (proteínas totales, albúminas y globulinas), fué gradual y positiva, llegando al final del tratamiento a los valores medios normales, confirmando en esta forma los trabajos sobre regeneración proteica, realizados por diversos autores, mediante el suministro de aminoácidos<sup>141, 142, 143, 144, 145</sup>. Los resultados obtenidos en los valores medios de la hemoglobina y hematocrito, también fueron favorables, demostrando, el rol de los aminoácidos en la síntesis de este compuesto y la función de proteinogénesis, que establecieron LEVY<sup>146</sup>, y KATTUS<sup>198</sup>, (Cuadros 7, 8, 9, 10).

Finalmente, la administración de aminoácidos y colina es favorable para obtener ganancias apreciables de peso. En el curso de nuestras observaciones hemos comprobado que lactantes que permanecían durante varios meses con una curva ponderal estacionaria, al recibir dichos elementos, incrementaron rápidamente de peso, mejorando apreciablemente su estado nutritivo. Al contrario, en la parte experimental, hemos hallado que los animales que estuvieron sometidos a dieta libre de proteínas, disminuyeron su peso corporal y tuvieron una pérdida acentuada de plasmoproteínas y hemoglobina; en cambio, aquellos que se les proporcionó suplemento de aminoácidos, tuvieron un aumento de peso y sus cifras de proteínas plasmáticas y hemoglobina llegaron a ser superiores a las de los animales normales.

Esta acción benéfica de los hidrolizados de caseína y el cloruro de colina, se debería fundamentalmente a que ejercen acción lipotrópica, desengrasando el hígado y devolviéndole su actividad normal. El distrófico, hemos comentado, es un insuficiente digestivo, y presenta profundas alteraciones de su fisiologismo y del me-

tabolismo proteico, lípido, vitamínico, etc. Creemos, que mejorando las funciones hepáticas y aportándoles materiales proteicos transformables en proteicas plasmáticas y tisulares, y necesarios para la síntesis de sus hormonas, enzimas o algunos otros compuestos esenciales del organismo, se llega a conseguir un óptimo nutritivo, y la recuperación funcional y anatómica de los diversos órganos y tejidos comprometidos.

Debemos señalar, sin embargo, que la administración de aminoácidos y colina, por sí solos no resuelven definitivamente la terapéutica del distrófico. Esta debe ser integral y, junto al uso de los elementos que hemos señalado, se administrará una dieta adecuada al estado nutritivo del niño —dieta de alto valor calórico y correcta dosificación vitamínica— y aquellos elementos que sean necesarios para corregir los procesos infecciosos o carenciales que presenta.

El distrófico, es un ser lábil, y como tal será tratado. La distrofia, una afección de origen fundamentalmente nutritivo que se refleja por el insuficiente estado funcional del hígado. Demostrar la participación de esta glándula en el mantenimiento del estado distrófico ha merecido nuestro mayor interés, y alcanzar su normalización, el fundamental propósito de este estudio.

#### CONCLUSIONES

1º Las investigaciones clínicas han demostrado que en la distrofia existe disminución de las cifras de proteínas totales y albúminas plasmáticas, aumento de globulinas e inversión de la relación serina-globulina. Asimismo, que los valores de hemoglobina circulante y hematocrito, son inferiores a los normales.

2º Las pruebas hepáticas de floculación: cefalina-colesterol, timol y oro coloidal, fueron encontradas positivas en más del 90% de los casos estudiados, con grados diversos de positividad, y tanto más intensas cuanto más acentuado era el estado de desnutrición del niño, confirmando así la existencia de un compromiso de la célula hepática.

3º Las encuestas alimenticias realizadas en distróficos, han puesto de manifiesto el insuficiente aporte de sustancias proteicas, grasas, vitaminas y agentes lipotrópicos, y la frecuencia con que se administra las dietas farináceas a los lactantes, en nuestra población general; factores en los que es posible residan las causas

determinantes de las alteraciones funcionales y anatómicas del hígado, que se observan en el distrófico policarencial.

4º El estudio experimental realizado en ratas ha demostrado que la privación proteica y de agentes lipotrópicos ocasiona modificaciones en el fisiologismo y arquitectura histológica de la glándula hepática, que afectan de modo preferencial al metabolismo proteico y lipido.

5º Las lesiones anatómicas del hígado, en los animales sometidos a régimen exento de proteínas y pobre en colina, están caracterizadas por: tumefacción turbia, hiperplasia de los elementos retículoendoteliales, congestión venosa intra y extralobulillar, distorsión trabecular y grados variables de infiltración grasosa de la célula hepática, que se acentúa a medida que más se prolonga la duración de la carencia.

6º Las dietas libres de proteínas también producen en los animales de experimentación, baja notable de las cifras de plasmoproteínas, hemoglobina, peso corporal y peso del hígado, que traducirían las graves modificaciones que se establecen en el metabolismo general.

7º Las pruebas hepáticas de floculación: cefalina-colesterol, timol y oro coloidal, realizadas en las ratas que estuvieron privadas de proteínas se toman positivas a los pocos días de la prueba, revelando la existencia de compromiso funcional del hígado, el que está en relación con las alteraciones histológicas presentes.

8º Los resultados del estudio clínico y experimental, tienen gran similitud y demuestran que en ambos casos los cambios de la bioquímica sanguínea y del estado general, están en íntima conexión con los trastornos fisiológicos e histológicos de la célula hepática, los que, a su vez, son generados por deficiencias nutritivas específicas, particularmente de proteínas y sustancias lipotrópicas.

9º Las observaciones clínicas han probado que el distrófico presenta gran mengua de su actividad digestiva, y que es incapaz de utilizar correctamente los principios nutritivos que se le suministran habitualmente con la alimentación.

10º El tratamiento con aminoácidos y cloruro de colina determina una apreciable mejoría clínica del distrófico, con aumento del peso y retorno a cifras normales de las plasmoproteínas, hemoglobina y hematocrito, así como disminución de la positividad de las pruebas hepáticas de floculación, lo que expresaría la recu-

peración funcional del hígado y de los mecanismos reguladores del metabolismo proteico, lipido, hidrocarbonado y vitamínico.

11º Dadas las causas distrofiantes ya expuestas: pobre o insuficiente suministro proteico, y aumento de la alimentación hidrocarbonada, y además, la alta incidencia de la distrofia en el medio hospitalario, es procedente una campaña de prevención mediante una adecuada educación maternal.

12º Es de desear, que el esquema terapéutico que hemos establecido en el presente trabajo se generalice en los servicios asistenciales de niños, a fin de conseguir una pronta mejoría clínica y una menor permanencia en el Hospital.

## BIBLIOGRAFIA

- 1.—KRUMDIECK, C. F. *Etiología General de las distrofias*. Rev. Hosp. del Niño. Nº 19. Año VI. 1944.
- 2.—KRUMDIECK, C. F. *Distrofias por carencia vitamínica*. Rev. Hosp. del Niño. Nº 19. Año VI. Jun., 1944.
- 3.—KRUMDIECK, C. F. *El problema social de las distrofias*. Rev. Hospital del Niño. Nº 19. Año VI. Jun., 1944.
- 4.—KRUMDIECK, C. F. *Factores sociales de la morbosidad y letalidad infantiles*. Rev. Hosp. del Niño. Nº 26. Año VIII. Marz., 1946.
- 5.—FILOMENO, G. *Factores médico sociales de la morbimortalidad infantil*. Rev. Hosp. del Niño. Setbre., 1944.
- 6.—LEÓN GARCÍA, E. *Algunos aspectos de morbosidad y mortalidad en el Hospital del Niño*. Rev. Hosp. del Niño. Setbre., 1941.
- 7.—BAZÁN, C. *La madre de nuestras clases populares*. Rev. Hosp. del Niño. Junio, 1946.
- 8.—ARRIOLA, F. *Contribución al estudio de la Distrofia en Lima*. Rev. Hosp. del Niño. Nº 18. Abril-Setbre., 1949.
- 9.—GILLMAN Y GILLMAN. *Hepatic Damage in Infantile Pellagra and its Response to Vitamin, Liver and Dired Stomach Therapy as Determined by Repeated Liver Biopsias*. J. A. M. A. Vol. 129. 12. 1945.
- 10.—FRANKLIN, POOPER, STEINGEMANN y KOZOLL. *Relation between Structural and Funtional Alterations of the Liver*. Jour. Lab. and Clin. Med. Vol. 33. 435-447. 1948.
- 11.—KRUMDIECK, C. F. y MUÑOZ PUGLISEVICH, J. *Estudios acerca de la distrofia en los niños de Lima*. Rev. Hosp. del Niño, Nº 32-33. Año IX. 1947.
- 12.—KUONG CABELLO, J. *Contribución al estudio de las distrofias y toxicosis. Prueba de Hángger*. Rev. Per. de Ped. Vol. XIV. Nº 43. 1948.
- 13.—HUARINGA, J. *Prueba de Hángger en niños sanos*.
- 14.—CASTELLANO, C. *La bilirrubinemia en niños sanos y sus variaciones en las distrofias y toxicosis*. Tesis de Bachiller en Medicina. 1948.
- 15.—ORLANDINI, O. *Las pruebas funcionales hepáticas de floculación: oro*

coloidal, timol y cefalina colesterol, en la desnutrición infantil y toxicosis. Tesis de Bachiller en Medicina. 1948.

- 16.—EPPINGER, H. *Enfermedades del Hígado*. Edit. Labor. Edición, 1945.
- 17.—WHIPPLE, H. C. *Proteins Productions and Exchange in the Body, including Hemoglobin, Plasma Proteins and Cell Proteins*. Amer. Jour., of the Med. Science, 196:343, 1938.
- 18.—WILSON, H. E. C. *Estudies on the physiology of protein retention*. Jour. Physiol. 72:327, 1931.
- 19.—ADDIS, T. POO, L. J. and LEW, W. *Protein loss from liver during a two-day fast*. J. Biol. Chem. 115:117, 1936
- 20.—ADDIS, T. POO, L. J. and LEW, W. *The quantities of protein lost by the various organs and tissues of the body during a fast*. J. Biol. Chem. 115:111, 1936.
- 21.—KOSTERLITZ, H. W. *The effects of dietary protein on liver cytoplasm*. Nature, 154:107, 1944.
- 21a.—KOSTERLITZ, H. W. *The effects of changes in dietary protein on the composition and structure of the liver cell*. J. Physiol. 106:194, 1947.
- 22.—BERG, W. Citado por Peters y Van Slyke (25).
- 23.—LI, H. M. Citado por Peters y Van Slyke (25).
- 24.—LUCK, J. M. *Liver proteins. The question of protein storage*. J. Biol. Chem. 115:491, 1936.
- 25.—PETER and VAN SLYKE. *Quantitative Clinical Chemistry*. Second. Edition, 1946. Baltimore.
- 26.—MINKOWSKI. Citado por Peters y Van Slyke (25).
- 27.—ALLAN, N. F. BOWIE, D. J. MACLEOD, J. J. and ROBINSON, W. L. *Behaviour of depancreatized dogs kept alive insulin*. Brit. J. Exper. Path. 5:75, 1931.
- 28.—HERSEY, J. M. and SOSKIN, S. *Sustitution of "lecithin" for raw pancreas in the diet of depancreatized dog*. Am. J. Physiology. 98:74, 1931.
- 29.—STETTEN, DE W. and SALCEDO, J. *The source of the extraliver fat in various types of fatty liver*. J. Biol. Chem. 156:27, 1944.
- 30.—CHAIKOFF, I. L. and KAPLAN, A. *The blood lipids in completely depancreatized dogs maintained with insulin*. J. Biol. Chem. 156:27, 1934.
- 31.—BEST, C. H. and HERSEY, J. M. *The effect of some component of crude lecithin on depancreatized animals*. J. Physiology. 75:49, 1932.
- 32.—STETTEN, DE W. and GRAIL, G. F. *The rates of replacement of depot and liver fatty acids in mice*. J. Biol. Chem. 148:509, 1943.
- 33.—BURR, G. O. and BURR, M. M. *On the nature and role of the fatty acids essential in nutrition*. J. Biol. Chem. 86:587, 1930.
- 34.—BURR, G. O. and BURR, M. M. *A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fatty from the diet*. J. Biol. Chem. 82:345, 1929.
- 35.—TURNER, K. B. and BIDWELL, E. H. *Further observations on the blood cholesterol of rabbits in relation to atherosclerosis*. J. Exper. Med. 62:721, 1935.
- 36.—BURR, G. O. *Significance of the essential fatty acids*. Proc. Soc. Exper. Biol. 1:224, 1942.
- 37.—HUME, E. M., NUNN, L. C. A., SMEDLEY-MACLEAN and SMITH, H. H. *Fat deficiency disease of rats. The relative curative potencies of methyl linoleate and methyl arachidonate with a note on the action of the methyl esters of fatty acids from cod liver oil*. Biochem. J. 34:879, 1940.

- 38.—ENGEL, R. W. *The relation of B. vitamins and dietary fat to the lipotropic action of coline.* J. Nutrition, 24:175, 1942.
- 39.—BARNES, R. H., MILLER, E. S. and BURR, G. O. *The absorption and transport of fatty acids across the intestinal mucosa.* J. Biol. Chem. 140:233, 1941.
- 40.—CHANNON, H. J., HANSON, S. W. F. and LOIZIDES, P. A. *The effect of variations of diet fat on dietary fatty livers in rats.* Biochem. J. 36:214, 1942.
- 41.—CHANNON, H. J. and WILKINSON, H. *The effect of various fats in the production of dietary fatty livers.* Biochem. J. 30:1033, 1936.
- 42.—ARTOM, C. and SWANSON, M. *The action of bromo-substitute fatty acids on liver fat.* J. Biol. Chem. 148:633, 1943.
- 43.—BEST, C. H., HERSEY, J. M. and HUTSMAN. *The effect of lecithin on fat deposition in liver of the normal rat.* J. Physiology 75:49, 1932.
- 44.—BEST, C. H., FERGUSON, G. C. and HERSHEY, J. M. *Choline and liver fat in diabetic dogs.* J. Physiology, 75:49, 1932.
- 45.—BEST, C. H., MANSON, E. H., MCHENRY, E. W. and RIDOUT, T. H. *The effect of diets low in Choline.* J. Physiology, 86:315, 1936.
- 46.—WELCH, A. O. and LANDAU. *The arsenic analogue of choline as a component of rates, fed arsenocholine chloride.* J. Biol. Chem. 144:581, 1942.
- 47.—AYLWARD, F. X., CHANNON, H. J. and WILKINSON H. *The liver and fat metabolism.* Biochem. 29:169, 1935.
- 48.—BEST, C. H. and HUTSMAN, M. E. *The effect of lecithin on fat deposition in liver of rat in various states of nutrition.* J. Physiol. 83:255, 1935.
- 49.—BEESTON, A. W., CHANNON, H. J., LOACH, J. V. and WILKINSON, H. *Further observations on the effect of dietary caseinogen in the prevention of fatty livers.* Biochem. 30:1040, 1936.
- 50.—BEST, C. H. and CHANNON, H. J. *The action of choline and other substances in the prevention and cure of fatty livers.* Biochem. Jour. 29:2651, 1935.
- 51.—CHANNON, H. J. and WILKINSON, H. *Protein and the dietary production of fatty livers.* Biochem. Jour. 29:350, 1935.
- 52.—BEST, C. H. and RIDOUT, J. H. *The effect of cholesterol and choline on deposition of liver fat.* J. Physiology, 78:415, 1936.
- 53.—CHANNON, H. J., MANIFOLD, M. C. and PLATT, A. P. *The action of cystine and methionine on liver fat deposition.* Biochem. Jour. 32:969, 1938.
- 54.—TUCKER, H. F., ECKSTEIN, H. C. *The effect of supplementary methionine and cystine on the production of fatty livers by diet.* J. Biol. Chem. 121:479, 1937.
- 55.—TUCKER, H. F. and ECKSTEIN, H. C. *The effect of supplementary lysine, methionine and cystine, on the production of fatty livers by high fat diets containing gliadin.* J. Biol. Chem. 126:117, 1938.
- 56.—TUCKER, H. F., TREADWELL, C. R. and ECKSTEIN, H. C. *The effect of supplementary cystine and methionine on the production of fatty livers by rats on high fat diets containing casein or edestin.* J. Biol. Chem. 135:85, 1940.
- 57.—VIGNEAUD, V., COHN, M., CHANDLER, J. P., SCHENCK, J. R. and SIMMONDS, S. *The utilization of the methyl group of methionine in the biological synthesis of choline and creatine.* J. Biol. Chem. 140:625, 1941.
- 58.—VIGNAUD, V., CHANDLER, J. P., MOYER and KEPPEL, D. M. *The effect of choline*

- on the ability of homocystine to replace methionine in the diet. *J. Biol. Chem.* 131:57, 1939.
- 59.—STETTEN, DE W. Jr. *Biological relationships of choline, etanolamine, and related compounds.* *J. Biol. Chem.* 140:143, 1941.
- 60.—STETTEN, DE W. Jr. *Biological synthesis of choline by rats on diets with and without adequate lipotropic methyl.* *J. Biol. Chem.* 142:629, 1942.
- 61.—STETTEN, DE W. and GRAIL, G. F. *Effect of dietary choline, ethenolamine, serine, cystine, homocystine, and guanidoacetic acid on the liver lipid.* *J. Biol. Chem.* 144:231, 1942.
- 62.—GRIFFITH, H. W. *Choline metabolism. The relation of the age, weight and sex of young rats to the occurrence of hemorrhagic degeneration on a low choline diet.* *J. Nutrition*, 19:437, 1940.
- 63.—GRIFFITH, H. W. *The effect of supplementary choline, methioine and cystine and of casein, lactalbumin, fibrin, edestin and gelatin in hemorrhagic degeneration in young rats.* *J. Nutrition*, 21:291, 1941.
- 64.—HORNING, M. G. and ECKESTEIN, H. C. *The influence of supplementary casein, cystine and methionine on liver lipid content of adult rats.* *J. Biol. Chem.* 155:49, 1944.
- 65.—BEESTON, A. W. and CHANNON, H. J. *Cystine and the dietary of fatty livers.* *Biochem. J.* 30:280, 1936.
- 65a.—STETTEN, DE W., SALCEDO and BOXER, G. E. *Studies in corbohydrate metabolism. The rate of turnover of liver and carcass glycogen studied with the aid of deuterium.* *J. Biol. Chem.* 155:231, 1944.
- 66.—FISHMAN, W. H. and ARTOM, C. *Serine injure.* *Jour. Biol. Chem.* 145:345, 1942.
- 67.—BINCKLEY, F. and VIGNEAUD, DE W. *The formatlon of cystine from homocystine and serine by liver tissue of rats.* *J. Biol. Chem.* 144:507, 1942.
- 68.—STETTEN, DE W. Jr. *The fate of dietary serine in the body the rat.* *J. Biol. Chem.* 144:501, 1942.
- 69.—LOIZIDES, P. A. *The effect of cholesterol feeding on lipid deposition in the liver of rats.* *Biochem. J.* 32:1345, 1938.
- 70.—GRIFFITH, W. N. and WADE, N. J. *The effect of cystine, fat and cholesterol on hemorrhagic degeneration in young rats.* *J. Nutrition*, 21:639, 1941.
- 71.—GAVIN, G., PATTERSON, J. M. and MCHENRY, E. W. *Comparison of the lipotropic effects of choline, inositol, and lipotropic lipocaic in rats.* *J. Biol. Chem.* 148:275, 1943.
- 72.—BLATERWICK, N. R., MEDIAR, E. M., BRADSHAW, P. J. and POST, A. L. *The dietary production of fatty livers in rats.* *J. Biol. Chem.* 103:93, 1933.
- 73.—MCHENRY, E. W. and GAVIN, G. *The effects of liver and pancreas extracts upon fat synthesis and metabolism.* *J. Biol. Chem.* 134:683, 1940.
- 74.—MCHENRY, E. W., GAVIN, G. and PATERSON, J. M. *Lipotropic factors.* *Physiol. Rev.* 24:128, 1944.
- 75.—ABELS, J. C. KUPEL, C. W. PACK, G. T. and RHOADS C. P. *Metabolism studies in patients with cancer of the gastro-intestinal tract. Lipotropics proprieties of inositol.* *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 54:157, 1943.

- 76.—ABELS, J. C., ARIEL, I. M., PACK, C. T. and RHOADS, C. P. *Metabolic studies in patients with cancer of gastro-intestinal tract. Lipotropic properties of protein.* Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 56:62, 1944.
- 77.—REKERS, P. E., ABELS, J. C. and RHOADS, C. P. *Metabolic studies in patients with gastro-intestinal cancer. Fat metabolism, a method of study.* J. Clin. Invest. 22:243, 1943.
- 78.—MCHENRY, E. W. *An effect of choline upon weights of young rats.* J. Physiol. 85:343, 1935.
- 79.—MCHENRY, E. W. *Vitamin B<sub>1</sub> and fatty livers.* J. Physiol. 89:287, 1937.
- 80.—MCHENRY, E. W. and GAVIN, G. *The vitamins B and fat metabolism. Effects of thiamine, riboflavin, and rice-polish concentrate upon body fat.* J. Biol. Chem. 125:653, 1938.
- 81.—WHIPPLE, G. H. and CHURCH. Citado por Steepp, Kuhnau y Schroeder "Las Vitaminas". Ed. Ateneo. 4ta. Edición, 1941.
- 82.—RALLI, E. P. and RUBIN, S. H. *The effect of meat and meat fractions on the fatty liver of the depancreatized and pancreatic-duct ligated dog.* Am. J. Physiol. 138:42, 1942.
- 83.—FOLCH, J. and WOOLLEY, D. W. *Inositol, a constituent of brain phosphatide.* J. Biol. Chem. 142:963, 1942.
- 84.—HANDLER, P. and DANN, W. J. *The inhibition of rat growth by nicotinamide.* J. Biol. Chem. 146:357, 1942.
- 85.—CONNOR, C. L. *Fatty infiltration of the liver and the development of cirrhosis in diabetes and chronic alcoholism.* Am. Jour. Path. 14:347, 1938.
- 86.—PATECK, A. J. Jr. and POST, J. *Treatment of cirrhosis of the liver by a nutritional diets and supplementis rich in vitamin B complex.* J. Clin. Invest. 20:481, 1941.
- 87.—WANG, C. F. and HEGSTED, D. M. *Protein depletion studies. Methods for the determination of the blood and plasma volumes, thiocyanate Space and Bromosulfalein clearance in rats.* Am. J. Physiol. 156:227, 1949.
- 88.—MACLEAN, D. L., RIDOUT, J. H. and BEST, C. H. *The effects of diets low in choline upon liver function, growth and distribution of fat in the white rat.* Brit. Jour. Exper. Path. 18:345, 1937.
- 89.—HOUGH, V. H. and FREEMAN S. *The effect of a protein deficient diet on the serum phosphatase and hepatic dye clearance of dogs.* Am. J. Physiol. 138:184, 1942.
- 90.—HOUGH, V. H., FREEMAN, S., MONAHAN, E. P. and LI, T. W. *The effect of choline and cystine on the serum phosphatase and hepatic dye clearance of dogs maintained on deficient diets.* Am. J. Physiol. 139:642, 1943.
- 91.—BEST, C. H. and RIDOUT, J. H. *The effect undernutrition and liver fat.* J. Physiology. 94:47, 1938.
- 92.—MCKIBBIN, J. M., THAYER, S. and STARE, F. J. *Choline deficiency in dogs.* J. Lab. and Clin. Med. 29:1109, 1944.
- 93.—MCKIBBIN, J. M., FERRY, R. M., THAYER, S., PATTERSON, E. G. and STARE. *Further studies on choline deficiency in dogs.* J. Lab. and Clin. Med. 30:442, 1945.

- 94.—LI, T. W. and FREEMAN, S., HOUGH, W. H. and GUNN, F. D. *The increased susceptibility of protein deficient dogs to benzene poisoning.* Am. J. Physiol. 45: 166, 1945.
- 95.—LI, T. W. and FREEMAN, S. *Effect of protein deficiency and cholesterol feeding on the liver of dogs.* Am. J. Physiol. 145:646, 1946.
- 96.—FINKELSTEIN, H. *Tratado de enfermedades del Lactante.* Tercera Edición. Ed. Labor, 1941.
- 97.—GARRAHAN, J. P. *Medicina Infantil.* Sexta Edición. Ed. El Ateneo, 1946.
- 98.—MUÑOZ PUCLISEVICH, J. *Contribución al estudio de la bioquímica de las distrofias y toxicosis.* An. de la Fac. de Med. de Lima. Tomo XXIII. Nº 2. 232.
- 99.—MARFAN, A. B. *Les atfections des vois digestives et les de denutrition dans le première enfance.* Masson et Co. Editor, 1930.
- 100.—LLOSA RICKERS, G. *Contribución al estudio de la distrofia y toxicosis. Estudio del Colesterol.* Rev. Per. Ped. Vol. I. Año 1. Nº 2. 1943.
- 101.—CORNEJO BUSTAMANTE, Fco. *Algunos valores hematológicos y sus alteraciones en la distrofia y toxicosis.* Rev. Per. Ped. Vol. I. Nº 3. 1942.
- 102.—GARTNER, E. *Glicemia en niños; sus valores en eutrofia, distrofia y toxicosis.* Tesis de la Facultad de Medicina de Lima, 1944.
- 103.—CABALLERO MÉNDEZ, L. *Ascorbinemia en lactantes eutróficos y distróficos.* Tesis de la Facultad de Medicina de Lima, 1944.
- 104.—MONTENEGRO, J. *La acidez del jugo gástrico en niños distróficos y eutróficos.* Rev. Per. Ped. Enero, 1946.
- 105.—PETROZZI, J. *Las fosfatasas alcalinas en los niños de Lima.* Tesis de la Facultad de Medicina de Lima, 1945.
- 106.—BOLLMAN, MANN y MAGATH. Citado por Burr y Burr (33).
- 107.—LEWIS e IZUME. Citado por Peters y Van Slyke (25).
- 108.—MARSHALL y ROWNTREE. Citado por Peters y Van Slyke (25).
- 109.—BANG, I. Citado por Peters y Van Slyke (25).
- 110.—STANDER, H. Citado por Peters y Van Slyke (25).
- 111.—BERRIMAN, G. H. BOLLMAN, J. L. and MANN. *The influence of liver on the proteins of the plasma.* Am. J. Physiol. 139:556, 1943.
- 112.—GRAY, S. J. and GUZMÁN BARRÓN, E. *The electroforetic analises of the serum protein in diseases of the liver.* J. Clin. Invest. 22:191, 1943.
- 113.—GRAY, S. J. *A study the serum proteins in diseases of the liver.* J. A. M. A. 719, 1943.
- 114.—MENEHELLO, J. *Desnutrición en el Lactante Mayor.* Ed. Central de Publicaciones. Santiago de Chile, 1949.
- 115.—DELGADO MARTÍNEZ, G. *Insuficiencia en el lactante distrófico.* Tesis de la Facultad de Medicina. Santiago de Chile, 1945.
- 116.—BEST, C. H., CHANNON, H. J. and RIDOUT, J. H. *Undernutrition and liver fat.* J. Physiology, 94:47, 1938.
- 117.—WANG, CH. F., HEGSTED, M., LAPI, A., ZAMCHECK, N. and BLACK, M. *Progressive changes in liver composition, function, body fluids, and liver cytology during protien depletion in the rat and the effect of choline upon theses changes.* J. Lab. and Clin. Med. 34:953, 1949.
- 118.—GREEMBERG. *Determinación de albúmina y globulina en el suero sanguíneo.* Kolmer. Met. de Análisis Clínicos.

- 119.—KLETT. *Manual de Fotocolorímetro.*
- 120.—HANGER, F. M. *Serological differentiation of obstructive from hepatogenous jaundice by flocculation of cephalin-cholesterol emulsions.* J. Clin. Invest. 18:261, 1939.
- 121.—NEEFE. *Thimol flocculation test.* Gastroenterology, 7:1, 1946.
- 122.—MACLAGAN, N. F. *The serum colloidal gold reaction as a liver function test.* Brit. J. Exper. Path. 25:150, 1944.
- 123.—BROUN and MUETHER. *Liver extract in treatment of hepatic cirrhosis.* Proc. Cent. Soc. Clin. 19:85, 1946.
- 124.—BEAMS, A. J. *The treatment of cirrhosis of the Liver with choline and cystine.* J. A. M. A. 130:190, 1946.
- 125.—BARKER. *Modern Treatment of cirrhosis of Liver.* Sout. H. Med. and Surg. 109:325. Aug., 1947.
- 126.—ANGULO BAR, J. *Una sencilla serie de análisis en sangre para el diagnóstico y pronóstico de las enfermedades hepato-biliares.* Separata de Anales de la Facultad de Medicina de Lima. Tomo XXIX. Nº 3, 1946.
- 127.—DELGADO FEBRES, E. *Simposium sobre Cirrosis Hepática.* Reunión del Viernes Médico del Instituto Sanitas. Octubre, 1947.
- 128.—TORRES, HERNÁN. *Tratamiento de la Cirrosis Hepática.* Rev. del Viernes Médico. Tomo I. Año I. Nº 1, 1950.
- 129.—VILA y ACUÑA, E. *Consideraciones sobre el tratamiento de la cirrosis del hígado con cloruro de colina.* Rev. de Sanidad de Policía, 6:227. Julio-Agosto, 1946.
- 130.—SHOLL, A. T. y colab. *Nitrogen balance following intravenous and oral administration of casein hydrolysate to infants with acute gastro-intestinal disturbance.* J. Clin. Invest. 22:257, 1943.
- 131.—COX, W. M. Jr. and MULLER. *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.* 42:658, 1942.
- 132.—HARTMAN, A. F., LAWLER, N. J. and MEEKER, C. S. *Studies of amino-acids administration clinical uses of enzymatic digest of casein.* Jour. Pediatrics, 24:371, 1944.
- 133.—ELMAN R. and LISCHER, J. *Surg. Gynec. and Obst.* 76:503, 1943.
- 134.—FARR, L. R. *The intravenous administrations of smalls doses of casein hydrolysate to nephrotic children and its effect upon the nitrogen balance and plasma aminoacids level.* Jour. Pediat. 16:679, 1940.
- 135.—ROSE, W. C. *The nutritive significance of the amino acids.* Physiol. Rev. 18:109, 1938.
- 136.—ROSE, W. C. HAINES, W. J. and JOHNSON, J. E. *The role of the amino acids in human nutrition.* Jour. Biol. Chem. 146:683, 1942.
- 137.—WEECH, A. A. WOLLSTEIN, M. and GOETTSCHE, E. *Nutritional edema in the dog. Development of deficits in erythrocytes and hemoglobin on a diet deficient in protein.* J. Clin. Invest. 16:719, 1937.
- 138.—WOLLSTEIN, M. and GOETTSCHE, E. Id.
- 139.—DEL CARRIL, J. M. y LARGUIA, A. E. *Deshidratación en pediatría.* Ed. El Ateneo. Ed., 1942.
- 140.—DEL CARRIL, FOLEY, LARGUIA, SOJO y VIDAL. *Deshidratación en el Lactante.* Buenos Aires. Imprenta. Ah. Palacios. 1942.

- 141.—ELMAN, R. *The practical use of amino acids in protein nutrition.* J. A. M. A. 128:659, 1945.
- 142.—MADDEN, S. C. and BASSETT, S. M. *Amino acids in therapy of disease. Comparison of oral and parenteral administration.* Surg. Gynec. and Obst. 82: 131, 1946.
- 143.—CLARK y colab. *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.* 49:282, 1942.
- 144.—MADDEN, S. C. and WHIPPLE, C. H. *Jour. Exper. Med.* 231:585, 1944, 298.
- 145.—WHITE, A. *Jour. of Inter. Coll. of Surg.* 9:301, 1946.
- 146.—LEVY, J. S. *The effect of oral administration of amino acids on the hipoproteinemia resulting from bleeding peptic ulcer.* Gastroenterology, 4:375, 1945.
- 147.—COX, W. M. Jr. and MULLER, A. J. *Serum albumin regeneration as affected by intravenously and orally administrated protein hydrolysates.* Jour. Clin. Invest. 23:875, 1944.
- 148.—SACHAR, HORTWITS and ELMAN. *Jour. Exper. Med.* 75:453, 1942.
- 149.—CHOW and DE BIASSE. *Journ. Lab. and Clin. Med.* 33:453, 1948.
- 151.—SAHYUN, M. Citado por White (145).
- 152.—FAGIN, I. D. and ZINN, F. T. *Cirrhosis of the liver. Results of treatment with parenterally administered amino acids.* Jour. Lab. and Clin. Med. 27: 1400, 1942.
- 153.—FAGIN, I. D., SAHYUN, M. and PAGEL. *Cirrhosis of the liver. Treatment with oral and endovenously administered protein hydrolysates.* Jour. Lab. and Clin. Med. 28:8, 1943.
- 154.—BENNETT, M. A. *Role of methionine and casein hydrolysates in treatment of cirrhosis of liver.*
- 155.—LEVIS, H. B., TAYLOR and DAVIDSON. *Amer. Journ. Med. Science.* 214: 656, 1947.
- 156.—FLEMING and SNELL. *Journ. Digest. Diseases.* 9:115, 1942.
- 158.—KAUFFMAN, C. *Arch. of Pediatrics.* 63:382, 1946.
- 159.—MILLER and WHIPPLE, H. G. *Amer. Journ. Med. Science.* 200:739, 1940.
- 160.—WHEELER and GYORGY. *Amer. Journ. Med. Science.* 215:267, 1948.
- 161.—HEIDELBERGER, M. and KENDALL, F. E. *Journ. Exper. Med.* 64:161, 1936.
- 162.—HEIDELBERGER, M., PEDERSEN, K. O. *Journ. Exper. Med.* 65:393, 1937.
- 163.—FELTON, L. D. *Jour. Immunology.* 22:453, 1932. 25:165, 1933.
- 163a.—TYSELIUS, A. J. *Jour. Exp. Med.* 65:641, 1947.
- 164.—KABAT, E. A. *Jour. Exp. Med.* 69:103, 1939.
- 165.—SCHOENHEIMER, R., RAITNER, S., RITTENBERG, D. *Jour. Biol. Chem.* 144:541, 1942.
- 166.—CANNON, P. R., CHASE, W. E. and WISSLER, R. W. *Jour. Immunology.* 47: 133, 1943.
- 167.—SAHYUN, M. U. S. *Journ. Biological Chemistry.* 138:487, 1941.
- 168.—SAHYUN, M. *Am. Journ. Physiology.* 130:521, 1940.
- 169.—ROSS, W. F. and WOOD, T. R. *Journ. Biol. Chem.* 146:49, 1942.
- 170.—LI, C. H., EVANS, H. M. and SIMPSON, M. E. *Journ. Biol. Chemistry.* 149: 413, 1943.
- 171.—WHYTE, A., BONSNES, R. W. and LONG, C. N. H. *Journ. Biol. Chem.* 143: 447, 1942.
- 172.—LI, C. H. and EVANS, H. M. *Science.* 99:183, 1944.

- 173.—HOPKINS, F. G. *On an autoxidisable constituent of the cell.* Biochem. Journ. 15:286, 1921.  
*Some relations between ascorbic acid and glutathione.* Biochem Journ. 30:1446, 1936.
- 174.—ALBANESSE, A. A., HOLT, L. E., KAJDI, C. N. and FRANKSTON, J. E. *Observations on tryptophane deficiency in rats. Chemical and morphological changes in the blood.* Journ. Biol. Chem. 148:299, 1943.
- 175.—ALBANESSE, A. A. and FRANKSTON, J. E. *A difference in the metabolism of l- and dl tryptophane in the human.* J. Biol. Chem. 155:101, 1941.
- 176.—ALBANESSE, A. A. and BUSCHKE, W. *On cataract and certain other manifestations of tryptophane deficiency in rats.* Science, 95:584, 1942.
- 177.—SCHOENHEIMER, R., RITTENBERG, D. and KESTON, A. S. *Studies in protein metabolism. The activity of the  $\alpha$ -amino group of histidine in animals.* J. Biol. Chem. 127:385, 1939.
- 178.—DALE, H. H. Citado por Varela del Campo (*Reacción de Dale en el intestino del cobayo.* Tesis de la facultad de Medicina de Santiago de Chile. 1945).
- 179.—ROSE, W. C. and COOK, K. G. Id.
- 180.—MARSHALL, P. B. *Influence of adrenal cortical deficiency on the histamine content of rat tissues.* Jour. Physiol. 102:180, 1943.
- 181.—GOODMAN, L. S. and BEARG, P. A. *The action of histidine on the gastrointestinal tract.* Am. Jour. Digestive. Dis. 5:117, 1938.
- 182.—NACHMANSOHN, D., JOHN, H. M. and WAELSH, H. *Effect of glutamic acid on the formation of acetylcholine.* Journ. Biol. Chem. 150:485, 1943.
- 183.—MACLAGAN, N. F. *Thymol turbidity test; new indicator of liver dysfunction.* B.H. Jour. Exp. Path. 23:234, 1944.
- 185.—GLUCK, and WILSON. *Am. Journ. of Diseases of Children.* 71:601, 1943.
- 186.—GOTTFFIED, STEIMAN y KRAUS. *Amer. Journ. of Diseases of Children.* 72:251, 1946.
- 187.—HANDLER and DANN, W. J. *The inhibition of rat growth by nicotinamide.* Journ. Biol. Chem. 146:357, 1942.
- 188.—WANG, HEGSTED, LAPL, ZAMCHECK, y BLACK. (Id. 117).
- 189.—MACLAGAN, N. F. and BUNN, D. *Flocculation test with electrophoretic separated serum proteins.* Biochem. Journ. 41:580, 1947.
- 190.—GRAY, S. J. *Mechanism of the colloidal gold reaction of blood serum in liver disease.* Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 51:400, 1942.
- 191.—GRAY, S. J. *The colloidal gold reaction of blood serum in diseases of the liver.* Arch. Internal Medicine. 65:524, 1940.
- 192.—MOORE, D. B., FIERSON and HANGER. *Mechanism of positive cephalin-cholesterol in hepatitis.* Jour. Clin. Invest. 34:29, 1945.  
*A curative changes in serum albumin in parenchymal liver disease.* Bull. New York Acad. Med. 20:411, 1944.
- 193.—MOORE, D. B. Citado por Anquilo Bar (126).
- 194.—MAGALHÃES CARVALHO. *Esteatose hepática na distrofia plasmocrenal hidropigenta da infância.* Med. Cirg. Farm. 122:303, 1946.
- 195.—HARTMAN, A. F., LAWLER, N. J. and MEEKER, C. S. *Studies of amino acids administration. Clinical uses of enzymatic digest of casein.* Journ. Pediatric. 24:371, 1944.

- 196.—ALTSCHULER, S. S., SALRYUN, M. *Clinical use of aminoacids for maintenance of nitrogen equilibrium.* J. A. M. A. 121:163, 1943.
- 197.—SPIES, T. D. and MOREY, M. M. *Clinical study on the use of a protein supplement in treating persons with nutritive failure.* S. Medical Jour. 39:117, 1946.
- 198.—MADDEN, S. C. and KATTUS. *Plasma protein production as influenced by parenteral protein digests, very high protein feeding, and red blood cell catabolism.* J. Exper. Med. 82:181, 1945.
- 199.—HURTADO, A. *Métodos Estadísticos.* Separata de los Anales de la Facultad de Medicina de Lima. Año 1945. Vol. 28. Pág. 125. Edit. Médica Peruana.